

Aus der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. Fliser

**Analyse des neuen CKD-MBD-Parameter nox-PTH
als renaler und kardiovaskulärer Prädiktor
bei chronischer Nierenerkrankung**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2018

vorgelegt von: Anne-Sophie Limbach
geb. am: 16.02.1991 in Heidelberg

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
Zusammenfassung English	VIII
Zusammenfassung.....	X
1 Einleitung.....	1
1.1 Die chronische Nierenerkrankung	1
1.2 Calcium-Phosphat-Haushalt	3
1.3 Vitamin D	4
1.3.1 Funktion und Regulation.....	4
1.3.2 Biosynthese	4
1.3.3 Vitamin D bei chronischer Nierenerkrankung	4
1.4 Parathormon.....	5
1.4.1 Struktur und Funktion	5
1.4.2 PTH bei chronischer Nierenerkrankung	5
1.4.3 Nicht-oxidiertes Parathormon.....	6
1.4.4 Geschichte der laborchemischen PTH-Bestimmung	7
1.5 FGF-23.....	8
1.5.1 Pathophysiologie.....	8
1.5.2 FGF-23 bei chronischer Nierenerkrankung	9
1.5.3 Entdeckung von FGF-23	9
1.6 Fragestellung.....	10
2 Methodik	11
2.1 Patientenrekrutierung.....	11
2.1.1 Probanden	11
2.1.2 Einschlusskriterien.....	11
2.1.3 Ausschlusskriterien	12
2.2 Diagnostik.....	12
2.2.1 Blut- und Urindiagnostik	12
2.2.2 Bestimmung von Vitamin D	12

2.2.3	Bestimmung von PTH intakt	13
2.2.4	Bestimmung von nox-PTH	13
2.2.5	Bestimmung von FGF-23	14
2.3	Anthropometrische Daten	14
2.3.1	Körpergröße, Körpergewicht, Body-Mass-Index	14
2.3.2	Taillenumfang, Hüftumfang, Hüft-Taillen-Quotient	15
2.4	Erfassung des kardiovaskulären Risikos	15
2.4.1	Blutdruckmessung.....	15
2.4.2	Fragebogen.....	15
2.5	Studienendpunkte	16
2.6	Nachbeobachtung (Follow-up)	16
2.7	Ergebnisdokumentation und statistische Auswertung	17
3	Ergebnisse	18
3.1	Baseline Charakteristika	18
3.2	Untersuchte CKD-MBD-Parameter stratifiziert nach CKD-Stadien.....	21
3.3	Korrelationskoeffizienten aller untersuchten CKD-MBD Parameter.....	24
3.4	Prädiktive Eigenschaften von Biomarkern des Calcium-Phosphat Metabolismus..	25
3.4.1	Endpunkt kardiale Dekompensation	25
3.4.2	Endpunkt atherosklerotische Ereignisse	27
3.4.3	Endpunkt renales Ereignis	30
3.4.4	Receiver Operating Characteristic (ROC) Analyse der CKD-MBD- Parameter	32
3.4.5	Multivariate Cox-Regressionsanalyse	35
4	Diskussion	39
5	Schlussfolgerung.....	45
6	Literaturverzeichnis.....	46
7	Publikation/Dank	51

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Risikostratifizierung der chronischen Nierenerkrankung anhand von eGFR und Albuminurie-Kategorien KDIGO-Leitlinie zur chronischen Nierenerkrankung von 2012 (5).....	2
Tabelle 2:	Baseline Charakteristika der 544 Patienten.	18
Tabelle 3:	Baseline Charakteristika Medikation.	19
Tabelle 4:	Baseline Charakteristika stratifiziert nach KDIGO-Stadien.	20
Tabelle 5:	Korrelationstabelle der CKD-MBD Parameter.....	24
Tabelle 6:	Vergleich der diagnostischen Genauigkeit von CKD-MBD-Parametern für die Prädiktion der Studienendpunkte.	32
Tabelle 7:	Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt kardiale Dekompensation.	36
Tabelle 8:	Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.	37
Tabelle 9:	Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt renales Ereignis.	38

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Regulation des Calcium-Phosphat-Haushaltes.	3
Abbildung 2:	Boxplot nox-PTH nach GFR-Stadien.	22
Abbildung 3:	Boxplot iPTH nach GFR-Stadien.	22
Abbildung 4:	Boxplot FGF-23 nach GFR-Stadien	23
Abbildung 5:	Boxplot Calcitriol nach GFR-Stadien.	23
Abbildung 6:	PTH-intakt-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.....	25
Abbildung 7:	Nox-PTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.....	26
Abbildung 8:	Aktive Vitamin D-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.	26
Abbildung 9:	FGF-23-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.....	27
Abbildung 10:	Aktive Vitamin D-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.	28
Abbildung 11:	iPTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.....	28
Abbildung 12:	Nox-PTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.....	29
Abbildung 13:	FGF-23-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.....	29
Abbildung 14:	iPTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt.	30
Abbildung 15:	Nox-PTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt.	31
Abbildung 16:	Aktive Vitamin D-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt.	31
Abbildung 17:	FGF-23-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt.	32
Abbildung 18:	ROC Kurven der Parameter iPTH, nox-PTH, Calcitriol und FGF-23 für die Prädiktion von renalen Ereignissen.	33
Abbildung 19:	ROC Kurven der Parameter iPTH, nox-PTH, Calcitriol und FGF-23 für die Prädiktion von atherosklerotischen Ereignissen.....	34
Abbildung 20:	ROC-Kurven der Parameter iPTH, nox-PTH, Calcitriol und FGF-23 für die Prädiktion von kardialer Dekompensation.	34

Abkürzungsverzeichnis

ABI	Ankle brachial Index
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ANOVA	Analysis of Variance
AMI	Acute Myocardial Infarction
ANP	Artrial Natriuretic Peptide
AUC	Area Under the Curve
BB	Beta Blocker
BMI	Body-Mass Index
BNP	Brain Natriuretic Peptide
Ca-Pi-Metabolism	Calcium Phosphat Metabolismus
CHS	Cardiovascular Health Study
CRP	C-reaktives Protein
CKD	Chronic Kidney Disease
CKD-MBD	Chronic Kidney Disease and mineral bone disorder
CVD	Cardiovascular Disease
DM	Diabetes Mellitus
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
eGFR	Geschätzte (Estimated) Glomeruläre Filtrationsrate
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Essay
ECLIA	Electrochemiluminescence
ESRD	End Stage Renal Disease
FeCa	Fractional excretion of Calcium
FePi	Fractional excretion of Phosphate
FGF	Fibroblast Growth Factor
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
HDL	High Density Lipoprotein
IL	Interleukin
iPTH	PTH intact
KDIGO	Kidney Improving Global Outcomes
LDL	Low Density Lipoprotein
LVF	Linksventrikuläre Funktion
Na/Pi	Natrium/Phosphate

Nox-PTH	Non-oxidized Parathormon
NT-pro-BNP	N-terminal prohormone of Brain
p	p-Wert
PD	Peritoneal Dialyse
POCS	Prospective Observational Cohort Study
r	Pearson Korrelationskoeffizient
SD	Schleifendiuretika
SE	Standardfehler
SEM	Standard Error of the Mean
SPSS	Statistical Product Service Solutions
TD	Thiaziddiuretika
TNF- α	Tumornekrosefaktor Alpha
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
WHR	Waist-to-Hip-Ratio
WHAS	Women's Health and Aging Study

Zusammenfassung English

Introduction

Parathyroid hormone (PTH) is one of the main regulating factors in calcium-phosphate-homeostasis. It is well documented that plasma-PTH is divided into a non-oxidized, biologically active part and an oxidized, presumably biologically inactive part. Therefore, a parathyroid hormone assay was developed to measure non-oxidized PTH. In this current study, we analyzed whether plasma levels of non-oxidized PTH (nox-PTH) better predict cardiovascular and renal outcome in chronic kidney disease than plasma levels of intact PTH (iPTH).

Patients and Methods

We recruited 544 CKD (chronic kidney disease) stage G2-G4 patients from the ongoing CARE FOR HOME study. Intact PTH was measured by a second generation Electrochemoluminescence Immunoassay (ECLIA); nox-PTH was measured after prior removal of oxidized PTH molecules from the samples using specific monoclonal antibodies against the oxidized human PTH by affinity chromatography. The measurement of Calcitriol was carried out from serum by means of chemiluminescence method from an Analyser LIASON XL by Diasorin. C-terminal FGF-23 levels were measured by ELISA_technique (Fa. Immutopics). Patients were stratified into tertiles by their baseline plasma iPTH and nox-PTH levels and invited to annual follow-up visits to assess the occurrence of renal events, atherosclerotic events and acute heart failure.

Results

iPTH and nox-PTH were significantly correlated ($r = 0.39$; $p < 0.001$). During a follow up of 4.4 years, 105 cardiovascular and 65 renal events occurred. In Kaplan Meier analyzes, patients in the highest iPTH, nox-PTH and FGF-23 tertiles showed an increased incidence of atherosclerotic events (log rank test, iPTH: $p < 0.001$, nox-PTH: $p < 0.001$, FGF-23: $p < 0.001$, acute heart failure (iPTH: $p < 0.001$, nox-PTH: $p = 0.018$, FGF-23: $p < 0.001$) and renal events (iPTH: $p < 0.001$, nox-PTH: $p < 0.001$ and FGF-23: $p < 0.001$). In multivariate regression analysis, none of the analyzed parameters was an independent predictor for atherosclerotic events or CKD-progression after adjustment for confounders. Notably, iPTH and FGF-23 remained significant predictors for acute heart failure after full multivariate adjustment (iPTH: HR 3.19 [1.12-9.05 $p = 0.029$], FGF-23: 4.33 [1.31-14.39, $p = 0.001$]).

Patients with calcitriol levels in the lowest tertile showed a tendency to an increased risk for the cardiovascular endpoint, but without statistical significance.

In ROC analyzes, nox-PTH was not superior to iPTH in the prediction of a defined endpoint.

Discussion / Conclusion

Against our expectations, iPTH was more closely correlated to renal function and central parameters of calcium-phosphate homeostasis than nox-PTH. Similar to iPTH, nox-PTH predicts adverse renal and cardiovascular events among patients with non-dialysis CKD in univariate, but not anymore after adjustment for confounders in multivariate regression analysis.

Zusammenfassung

Hintergrund

Bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung (Chronic kidney disease = CKD) sind erhöhte Parathormon-Spiegel (iPTH) mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität assoziiert. Allerdings ist die Referenzmethode für die PTH-Messung umstritten. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Bedeutung des Serumspiegels von nox-PTH, welcher erst seit Kurzem eine Rolle in der Diagnostik chronischer Nierenerkrankungen spielt. Experimentelle Arbeiten suggerieren, dass es sich bei nox-PTH um den biologisch aktiven Teil des Parathormons handelt. Aus diesem Grund geht man davon aus, dass die Bestimmung von nox-PTH noch präzisere Auskunft über den tatsächlichen Hormonstatus des Patienten gibt und somit die Ausprägung eines sekundären Hyperparathyreoidismus besser widerspiegelt als herkömmliche PTH-Spiegel. Bisher war ungewiss, ob nox-PTH bei nicht-dialysepflichtigen CKD-Patienten das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse, kardialer Dekompensation und renaler Ereignisse besser prädiziert als das herkömmlich gemessene PTH.

Methodik

In unserer CARE FOR HOME-Studie, die 544 Patienten in den CKD-Stadien G2-G4 untersuchte, wurde iPTH mit einem Radioimmunoassay (ECLIA Elektro-Chemilumineszens Immunoassay) der zweiten Generation gemessen; nox-PTH wurde nach vorheriger Entfernung von oxidierten PTH-Molekülen unter Verwendung spezifischer monoklonaler Antikörper gegen das oxidierte menschliche PTH durch eine Affinitätschromatografie bestimmt. Die Messung von 1,25(OH)₂-Vitamin D₃ erfolgt aus Serum mittels CLIA der Firma Diasorin auf dem Analysegerät LIAISON XL. Die C-terminalen FGF-23-Plasma-Spiegel wurden mittels ELISA-Technik gemessen (Fa. Immutopics). Die Patienten wurden über einen Zeitraum von 4,4 Jahren zur Erfassung des Auftretens der Ereignisse kardiale Dekompensation, atherosklerotische Ereignisse und CKD-Progression verfolgt.

Ergebnisse

Bei Studienbeginn korrelierten iPTH und nox-PTH signifikant miteinander ($r = 0,39$, $p < 0,001$). In Kaplan-Meier-Analysen wiesen Patienten in den höchsten iPTH-, nox-PTH- und FGF-23-Tertilen signifikant häufiger atherosklerotische Ereignisse (Log-Rank-Test, iPTH: $p < 0,001$, nox-PTH: $p < 0,001$, FGF-23: $p < 0,001$), kardiale Dekompensationen

(iPTH: $p < 0,001$; nox-PTH: $p = 0,018$, FGF-23: $p < 0,001$), und eine CKD-Progression (iPTH: $p < 0,001$; nox-PTH: $p < 0,001$ und FGF-23: $p < 0,001$) auf, als Patienten in der niedrigsten Tertile. Nach Korrektur für potenzielle Störvariablen in der multivariaten Regressionsanalyse erwiesen sich weder nox-PTH noch Calcitriol als unabhängige Prädiktoren für die vordefinierten Endpunkte. FGF-23 und iPTH im Gegenzug blieben in der multivariaten Regressionsanalyse signifikante Prädiktoren kardialer Dekompensationen (iPTH: HR 3,19 [1,12-9,05, $p = 0,029$], FGF-23: 4,33 [1,31-14,39, $p = 0,001$]). In den ROC-Analysen zeigte sich nox-PTH gegenüber iPTH in der Prädiktion der vordefinierten Endpunkte als nicht überlegen.

Diskussion

Gegen unsere Erwartungen korrelierte iPTH stärker mit der Nierenfunktion und den zentralen Parametern der Calcium-Phosphat-Homöostase als nox-PTH. Im Gegensatz zu nox-PTH waren iPTH und FGF-23 unabhängige Prädiktoren kardialer Dekompensationen bei Patienten mit nicht-dialysepflichtiger chronischer Nierenerkrankung.

1 Einleitung

Die chronische Nierenerkrankung (CKD, Chronic Kidney Disease) ist mit einer Prävalenz von 13 %-16 % in Europa und den USA ein sozioökonomisch relevantes Gesundheitsproblem. Trotz des medizinischen und wissenschaftlichen Fortschritts ist die Mortalität bei dialysepflichtigen Patienten im Vergleich zur nierengesunden Normalbevölkerung um das 6- bis 9-fache erhöht (1). Die kardiovaskuläre Mortalität bei dialysepflichtigen Patienten ist sogar um 10 bis 30 % höher als bei Personen, die nicht unter einer CKD leiden (2). Neben klassischen Risikofaktoren wie einer arteriellen Hypertonie, einem Diabetes mellitus oder Adipositas trägt die „Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder“ (CKD-MBD) bei chronisch Nierenkranke als zusätzlicher Risikofaktor zu dem immens erhöhten kardiovaskulären Risiko bei. Charakterisiert wird die CKD-MBD durch derangierte Laborparameter (typischerweise ein sekundärer Hyperparathyreoidismus, eine Hypovitaminose D sowie eine Hyperphosphatämie), einen gestörten Knochenstoffwechsel mit erhöhtem Frakturrisiko und ausgeprägten vaskulären Verkalkungen, die zu einer erhöhten Rate kardiovaskulärer Ereignisse beitragen (3).

Die Einschränkung der Nierenfunktion und die beschriebenen Komorbiditäten haben für den Patienten eine lebenslange Abhängigkeit von medizinischer Versorgung zur Folge und laufen mit zunehmender Progression der Nierenerkrankung auf die Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie hinaus. Aus diesem Grund hat man sich in den vergangenen Jahren verstärkt auf eine frühzeitige Erkennung von Patienten mit einem erhöhten Risiko für chronische Nierenerkrankungen konzentriert. Zudem wurde versucht, der Progression von Nierenerkrankungen vorzubeugen (4).

1.1 Die chronische Nierenerkrankung

Die CKD ist durch einen progredienten Verlust der Nierenfunktion über einen Zeitraum von mehreren Monaten bis Jahren gekennzeichnet. Die CKD wird mit Hilfe von Leitlinien der „Kidney Disease Improving Global Outcome“ (KDIGO)-Initiative anhand der geschätzten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) und Albuminurie in verschiedene Stadien unterteilt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Risikostratifizierung der chronischen Nierenerkrankung anhand von eGFR und Albuminurie-Kategorien KDIGO-Leitlinie zur chronischen Nierenerkrankung von 2012 (5).

				Persistierende Albuminurie, Kategorien und Beschreibung		
				A1	A2	A3
				normal bis leicht ↑	moderat ↑	stark ↑
				<30mg/g	30-300mg/g	>300mg/g
GFR Kategorien (ml/min/1.73m ²) Beschreibung und Messwert	G1	normal bis hoch	>90			
	G2	leicht ↓	60-89			
	G3a	leicht/moderat ↓	45-59			
	G3b	moderat-stark ↓	30-44			
	G4	stark ↓	15-29			
	G5	Nierenversagen	<15			

Die unterschiedlich gefärbten Felder zeigen das Risiko für das Erreichen einer Dialysepflichtigkeit sowie das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse an. Grün: geringes Risiko, Gelb: intermediäres Risiko, Rot: hohes Risiko.

Die CKD umfasst Erkrankungen mit milden, oftmals asymptomatischen Formen bis hin zu einer Nierenerkrankung im Stadium 5. Patienten in diesem Stadium sind häufig von einer Nierenersatztherapie in Form einer Nierentransplantation oder Dialyse abhängig. Die Prävalenz des Stadiums 5 der CKD hat sich in den letzten 25 Jahren verdoppelt (6).

Zu den Krankheiten, die am häufigsten zu einem Stadium 5 der CKD führen, gehören neben der diabetischen Nephropathie und der arteriellen Hypertonie die primären und sekundären Glomerulonephritiden, Zystennierenerkrankungen, chronische tubulointerstitielle Erkrankungen und die vaskulären Nephropathien (7).

Die chronische Nierenerkrankung hat Einschränkungen der exkretorischen und endokrinen Nierenfunktion zur Folge, zudem wirkt sie sich negativ auf den Wasser-, Elektrolyt-, und Säure-Basen-Haushalt aus. Neben einer verminderten Sekretion von Erythropoetin, Prostaglandinen, Calcitriol und Renin hat die chronische Nierenerkrankung Organschäden durch retinierte harnpflichtige Substanzen zur Folge. Dies führt zu pathologischen Veränderungen in Serum (z.B. carbamylierte Serumproteine) und Urin (8).

Zu einem der wichtigsten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Komplikationen zählt die Albuminurie, welche als unabhängiger Risikofaktor für die Progression einer Nierenerkrankung gilt (9).

1.2 Calcium-Phosphat-Haushalt

Schon bei geringer Einschränkung der Nierenfunktion sind Veränderungen der Calcium- und Phosphat-Homöostase zu erkennen (10). Im Folgenden wird zunächst die Regulation des Calcium-Phosphat-Haushaltes unter physiologischen Bedingungen erläutert:

Für die Regulation des Calcium- und Phosphat-Haushaltes sind vor allem Parathormon und Vitamin D zuständig. Diese regulieren den Phosphat- und Calciumspiegel im Blut über Änderungen der Resorption von Phosphat und Calcium in Darm, Knochen und Niere. Tritt ein Abfall der Calcium-Spiegel im Blut auf, kommt es in der Nebenschilddrüse zur Sekretion von Parathormon (11). Ein Anstieg des Parathormon-Spiegels im Blut führt zu einer Erhöhung des Calcium-Spiegels, indem es die Ausscheidung über die Nieren vermindert und zu einer vermehrten Synthese von Calcitriol führt sowie zu einer vermehrten Phosphaturie. Calcitriol wiederum bewirkt im Sinne einer negativen Rückkopplungsschleife eine Reduktion der PTH-Sekretion (12).

Neben PTH und Vitamin D gibt es weitere Regulatoren des Calcium-Phosphat-Haushaltes wie beispielsweise FGF-23 (8, 18).

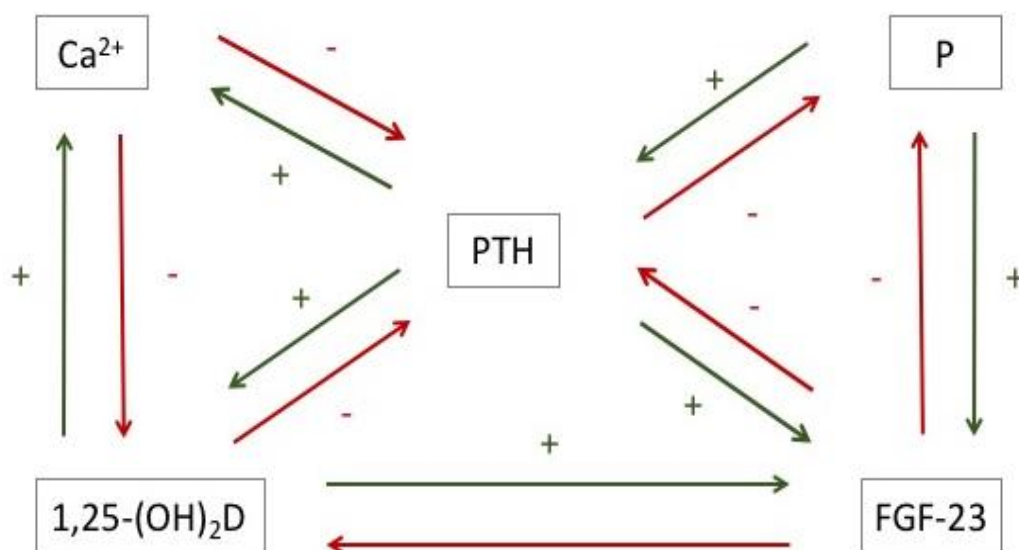


Abbildung 1: Regulation des Calcium-Phosphat-Haushaltes.

1.3 Vitamin D

1.3.1 Funktion und Regulation

Vitamin D ist ein wichtiger Regulator im Calciumhaushalt. Die aktive Wirkform von Vitamin D ist Calcitriol (1,25-(OH)₂-Vitamin D₃), welches zu einer Anhebung des Calciumspiegels über eine vermehrte Calciumresorption im Darm und in der Niere führt (13). Zudem erhöht Calcitriol den Phosphatspiegel, indem es die Phosphatabsorption über Darm und Nieren steigert (9). Die Bildung von Calcitriol wird durch Parathormon gefördert und vermindert seinerseits die Bildung von Parathormon. Ein Regulationskreislauf existiert ebenfalls zwischen FGF-23 und Calcitriol (12).

1.3.2 Biosynthese

Da sowohl eine körpereigene Synthese als auch eine alimentäre Zufuhr möglich sind, nimmt Vitamin D eine Sonderstellung unter den Vitaminen ein und wird aufgrund systemischer Effekte den Hormonen zugerechnet. Vitamin D wird in der Leber zu 25-OH-Vitamin D mit Hilfe der 25-Hydroxylase CYP2R1 an C25 hydroxyliert (14). Daraufhin bindet das Produkt 25-(OH)-Vitamin D (Hydroxycalciferol) an ein Vitamin D-bindendes Protein und gelangt so zur Niere. Dort wird es in den proximalen Tubuluszellen durch das Schlüsselenzym, die 1- α -Hydroxylase CYP27B1, in die aktive Form Calcitriol an C1 hydroxyliert, die die biologischen Effekte hervorruft (15).

Der Abbau von Calcitriol erfolgt durch mehrere Hydroxylierungs-Schritte zu wasserlöslicher Calzitroinsäure, die durch die 24-Hydroxylase CYP24A1 beginnend an C24 hydroxyliert wird (16).

1.3.3 Vitamin D bei chronischer Nierenerkrankung

Ein Mangel an aktivem Vitamin D tritt bereits in frühen Stadien der chronischen Nierenerkrankung auf und betrifft einen Großteil aller Patienten mit CKD bereits schon in frühen Krankheitsstadien (17). Klinische Studien postulieren, dass die Progression der CKD und die damit verbundenen kardiovaskulären Komplikationen mit einer Hypovitaminose D assoziiert sind. In einer Studie von Pietro Ravani *et al.* wurden die Spiegel von Calcitriol als Prädiktoren für die Progression einer chronischen Nierenerkrankung bei 168 nicht-dialysepflichtigen chronisch nierenkranken Patienten im Stadium G2-G5 untersucht. Erniedrigtes

Calcitriol erwies sich als unabhängiger Prädiktor für Mortalität und das Eintreten einer Dialysepflichtigkeit. Zusammenfassend wurde gezeigt, dass eine Hypovitaminose D häufig bereits bei nicht-dialysepflichtigen CKD-Patienten zu beobachten ist und signifikant mit dem Patienten-Outcome assoziiert ist. (18).

Ähnliches konnte auch für dialysepflichtige chronisch Nierenkranke gezeigt werden: In einer prospektiven Studie von M. Wolf *et al.* wurden 825 dialysepflichtige Patienten mit Hypovitaminose D beobachtet, vordefinierte Endpunkte stellten die kardiovaskuläre und Gesamtmortalität dar. Erniedrigte Calcitriol- und Calciferol-Spiegel stellten einen Risikofaktor für eine erhöhte kardiovaskuläre und Gesamtmortalität dar, interessanterweise zeigten jedoch CKD-Patienten, die aktives Vitamin D einnahmen, geringere kardiovaskuläre Ereignisse sowie eine geringere Gesamtmortalität (19). Der signifikante Zusammenhang zwischen erniedrigten Vitamin D-Spiegeln und erhöhter Mortalität blieb auch nach Korrektur für weitere Biomarker des Calcium-Phosphat-Haushaltes und klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren bestehen.

Die aufgeführten Studien suggerieren eine wesentliche Bedeutung der Vitamin D-Spiegel in der Gesamtprognose chronisch nierenkranker Menschen, sodass eine Vitamin D-Substitution einen sinnvollen therapeutischen Ansatz zur Optimierung der kardiovaskulären und renalen Prognose chronisch nierenkranker Menschen darstellen könnte.

1.4 Parathormon

1.4.1 Struktur und Funktion

Parathormon (PTH) ist ein Peptidhormon, welches von den Hauptzellen der Nebenschilddrüse synthetisiert und sezerniert wird. PTH setzt sich aus 84 Aminosäuren zusammen und ist ein essenzieller Regulator des Calcium- und Phosphatspiegels im Blut (20).

1.4.2 PTH bei chronischer Nierenerkrankung

Das Parathormon zählt zu den am besten untersuchten biochemischen Markern in der Diagnostik der renalen Osteopathie (CKD-MBD). Die “Kidney Disease Improving Global Outcomes“ (KDIGO)-Richtlinien empfehlen daher ab Stadium 3 regelmäßige Kontrollen der Serumspiegel von PTH, Calcium und Phosphat sowie alkalischer Phosphatase durchzuführen. Bei Kindern wird eine entsprechende Kontrolle ab dem Stadium 2 empfohlen (21).

In der Pathogenese der CKD-MBD ist als erste messbare Veränderung der Abfall von Calcitriol im Serum zu beobachten. Dies passiert aufgrund des sehr frühen Anstiegs von FGF-23. Weiterhin kommt es durch die fortschreitende Schädigung der Nephrone zu einer Hyperphosphatämie, da diese nicht mehr in der Lage sind, Phosphat auszuscheiden.

Die daraus entstehende Hyperphosphatämie stimuliert die FGF-23-Sekretion weiter (22, 23). Bei fortschreitender Erkrankung reagieren die Nebenschilddrüsen nicht mehr auf Schwankungen von Calcium und Calcitriol im Blut und schütten unkontrolliert PTH aus, was zu einem sogenannten tertiären Hyperparathyreoidismus führt (22, 23).

PTH spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese von kardiovaskulärer Mortalität und Morbidität bei chronisch nierenkranken Patienten. Sowohl zu niedrige als auch zu hohe PTH-Werte sind mit erhöhter Mortalität assoziiert (24). Das Verhältnis zwischen Mortalität und PTH wird als U-förmige Beziehung beschrieben (24-27).

1.4.3 Nicht-oxidiertes Parathormon

Inzwischen ist bekannt, dass Parathormon in unterschiedlichen Formen existiert. So gibt es zum einen eine nicht-oxidierte, vermutlich biologisch aktive Form (nox-PTH) sowie ein oxidiertes, vermutlich biologisch inaktives PTH (ox-PTH) (28, 29). Aktuell wird primär die Gesamtkonzentration von PTH („intaktes PTH“ = iPTH) bestimmt, was sowohl oxidiertes als auch nicht-oxidiertes PTH beinhaltet. Das Verhältnis von nicht-oxidiertem PTH zu dem klassischen iPTH schwankt von Patient zu Patient erheblich (30, 31). Der Durchschnittswert von nox-PTH bei nierengesunden erwachsenen Probanden liegt bei 7,71 +/- 1,55 mg/l (Mittelwert +/- S.D.), die Normwerte werden mit 5-14 ng/l angegeben (30, 32). Der Mechanismus, welcher zu einer Oxidation des Peptidhormons PTH führt, ist aktuell noch unklar. Bekannt ist allerdings, dass oxidativer Stress einen wesentlichen Einfluss auf die nox-PTH-Spiegel bei chronisch nierenkranken Patienten hat, da Patienten ohne oxidativen Stress einen deutlich niedrigeren Spiegel ox-PTH-Spiegel aufweisen. (33). Das biologisch aktive nox-PTH könnte zu einer Optimierung der Therapie und Kontrolle des Therapieverlaufs der CKD-MBD bei chronischen Nierenerkrankungen von großem Vorteil sein. Die bisher verwendeten PTH-Messmethoden messen sowohl nox- als auch ox-PTH und messen somit die Gesamtkonzentration an PTH (1-84). Man vermutet heute, dass dies zu falsch hohen PTH-Werten im Sinne einer überschätzten tatsächlichen Bioaktivität führt.

1.4.4 Geschichte der laborchemischen PTH-Bestimmung

Die laborchemische PTH-Bestimmung hat sich in den letzten Jahren stark weiterentwickelt. Aktuell sind 3 verschiedene Generationen des PTH-Assays verfügbar. Ende der sechziger Jahre wurde der erste Radioimmunoassay für PTH entwickelt. Hier verwendete man bovines PTH und Antiserum, dessen Kreuzreaktivität mit humanem PTH sehr gering war und daher nur stark erhöhte PTH-Werte bestimmt werden konnten (34).

10 Jahre später entwickelten Arnaud *et al.* einen neuen Assay mit Antiseren, die nun gegen PTH von Schweinen gerichtet waren und aufgrund der höheren Spezies-Homologie Messungen von Humanproben im Normbereich ermöglichten (35, 36). Allerdings war es beiden ECLIAS der „First Generation“ nicht möglich, zwischen Parathormon-Molekülen voller Länge (1-84 Aminosäuren PTH) und Abbaufragmenten von PTH zu unterscheiden. Bereits bei geringen Einschränkungen der Nierenfunktion kam es zu einer verminderten Ausscheidung der PTH-Abbau-Fragmente und somit zu falsch hoch gemessenen PTH-Spiegeln.

1987 wurde dann von Blind *et al.* (37) die zweite Generation PTH-Assays beschrieben und die Bezeichnung iPTH (intaktes Parathormon) eingeführt. Hier handelt es sich nun um ein Assay, welches nur intakte PTH-Moleküle und keine Abbaufragmente mehr erfasst, da dieser Assay an Position 1-84 und 7-84 der Aminosäurekette bindet. Dies ermöglichte eine Messung von PTH unabhängig der Nierenfunktion. Dieses Verfahren ist aktuell der gängigste Assay in der klinischen Diagnostik.

1-84 PTH wird auch Cyclase-aktiviertes PTH (kurz CAP) genannt, da es mit Hilfe der Adenylatcyclase aktiviert wird. 7-84 PTH ist nicht mittels Adenylatcyclase zu aktivieren und wird aus diesem Grund Cyclase-inaktives PTH (kurz CIP) genannt (38). Die genaue Funktion des PTH-Fragments 7-84 PTH ist bis heute nicht genau geklärt. Es wird eine Rolle in der Hemmung des Knochenabbaus diskutiert. Da auch für 7-84 PTH eine Relevanz vermutet wird, wird PTH aktuell mit Immunoassays (ECLIA) der zweiten Generation bestimmt, welche sowohl CAP als auch CIP und somit iPTH bestimmt. Allerdings zeigte sich keine gute Korrelation zwischen den PTH-Spiegeln, die mit dem Zweitgenerationsassay gemessen wurden, und den klinischen Korrelaten der CKD-MBD, wie beispielsweise dem bone-turnover bei der renalen Osteodystrophie (39). Daher erfolgte die Entwicklung eines Assays der dritten Generation.

Bei der dritten Generation des PTH-Assays handelt es sich um einen immunometrischen Assay, welcher auch als „Whole-PTH-Assay“ bezeichnet wird. Es wird ein capture-Antikörper

benutzt, der an die Aminosäuren 39-84 des PTH-Moleküls bindet. Der Zweitantikörper richtet sich gegen die Regionen 1-4 der aminoterminalen N-Struktur. Dennoch zeigte sich keine relevante Besserung der Assoziation zwischen PTH-Werten, die mittels Drittgenerationsassays gemessen wurden, und den entsprechenden klinischen Korrelaten der CKD-MBD (39).

Demzufolge wurde ein Viertgenerationsassay zur PTH-Messung entwickelt, welcher zwischen vermutlich biologisch aktivem nox-PTH und der vermutlich biologisch inaktiven, oxidierten Form des PTH unterscheiden kann. Die Messung dient zur quantitativen Bestimmung von nox-PTH im EDTA-Plasma. Hierfür erfolgt eine Entfernung von oxidiertem PTH. Anschließend wird mit Hilfe des Zweitgenerationsassays das übrig gebliebene, nicht-oxidierte PTH gemessen.

Die zur Entfernung von ox-PTH verwendeten Immunaффinitätssäulen basieren auf einer spezifischen Antikörper-PTH-Bindungstechnologie, sodass nur noch das vermeintlich biologisch aktive, nicht-oxidierte PTH in dem anschließenden Sandwich-Assay nachgewiesen werden kann (40) (41).

1.5 FGF-23

Fibroblast Growth Factor-23 ist ein aus 251 Aminosäuren bestehendes Polypeptid aus der Familie der Wachstumsfaktoren und ein zentraler Regulator des Calcium-Phosphat-Haushaltes. Es wird im Knochen gebildet und führt zu einer Abnahme des Phosphatspiegels im Blut durch erhöhte renale Phosphatausscheidung. Zudem hemmt es die Effekte von Calcitriol, indem es die Vitamin D-Aktivierung auf Stufe der renalen 1α -Hydroxylierung hemmt und gleichzeitig die Inaktivierung über die 24-Hydroxylierung fördert (42). In der Nebenschilddrüse unterdrückt FGF-23 die PTH-Synthese und ebenfalls die Vitamin D-Aktivierung (43). Um diese Effekte hervorzurufen, bindet FGF-23 an verschiedene FGF-Rezeptoren, deren Aktivierung wiederum abhängig ist von der Präsenz von Klotho, dem essenziellen Co-Faktor von FGF-23 (43).

1.5.1 Pathophysiologie

FGF-23-knock-out-Mäuse weisen einen Phänotyp mit Hyperphosphatämie durch verminderte renale Phosphatausscheidung auf. Zudem zeigen sie erhöhte Calcitriol-Spiegel, was eine Hyperkalzämie bewirkt, die in Kombination mit der Hyperphosphatämie zu Gewebs- und Ge-

fäßverkalkungen führt. Die FGF-23-knock-out-Mäuse haben eine herabgesetzte Lebenserwartung im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen (44).

Eine Überexpression von FGF-23 führt beim Menschen zum Krankheitsbild einer hypophosphatämischen Rachitis mit exzessivem renalen Phosphatverlust (45).

1.5.2 FGF-23 bei chronischer Nierenerkrankung

Eine chronische Nierenerkrankung ist mit deutlich erhöhten FGF-23-Spiegeln assoziiert. Bei dialysepflichtigen Patienten liegen die FGF-23-Spiegel bis zu 100-mal höher als bei gesunden Probanden (46) und steigen bereits bei geringen Einschränkungen der Nierenfunktion noch vor PTH und Phosphat an (47, 48). Die Ursache für den Anstieg der FGF-23-Spiegel im frühen Stadium der CKD wird aktuell noch kontrovers diskutiert. Inzwischen gelten erhöhte FGF-23-Spiegel auch als Prädiktoren der kardiovaskulären sowie der Gesamtmortalität (42, 49, 50). Das Ausmaß der erhöhten FGF-23-Konzentrationen im Serum korreliert signifikant mit der Gesamtmortalität, dem kardiovaskulären Risiko und der Progression einer chronischen Nierenerkrankung (42, 50).

1.5.3 Entdeckung von FGF-23

Erstmals evident wurde die klinische Relevanz von FGF-23 im Jahr 2000 bei genetischen Untersuchungen erblicher Phosphat-Stoffwechsel-Erkrankungen, die einen renalen Phosphatverlust und niedrige Calcitriol-Spiegel aufwiesen (51). Eine dieser Erkrankungen ist die autosomal-dominante hypophosphatämische Rachitis (ADHR), bei welcher es zu einem renalen Verlust großer Mengen von Phosphat kommt (45). Bei Patienten mit dieser Erkrankung wurde FGF-23 erstmalig als Produkt eines mutierten FGF-23-Gens nachgewiesen. Diese Mutation verhindert eine Inaktivierung von FGF-23 und führt zu erhöhten FGF-23-Spiegeln (52, 53). Zudem führten Erkenntnisse einer weiteren Erkrankung, der Tumor-induzierten Osteomalazie (TIO), ebenfalls zu FGF-23. Die TIO ist ein paraneoplastisches Syndrom, welches mit mesenchymalen Tumoren assoziiert ist und ebenfalls zu einem renalen Verlust großer Mengen Phosphat führt, welcher allerdings regredient ist, sobald der meist benigne Tumor entfernt wurde. (54, 55)

1.6 Fragestellung

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit soll anhand der CARE FOR HOME-Studie:

- Nox-PTH als neuer CKD-MBD-Parameter erstmals als Prädiktor kardiovaskulärer und renalere Ereignisse bei nicht-dialysepflichtigen chronisch nierenkranken Patienten untersucht werden.
- Zudem soll die prädiktive Wertigkeit von nox-PTH als neuem CKD-MBD-Parameter mit der prädiktiven Wertigkeit bereits etablierter CKD-MBD-Parameter wie iPTH, FGF-23 und Calcitriol verglichen werden.

2 Methodik

2.1 Patientenrekrutierung

2.1.1 Probanden

Im Rahmen der CARE FOR HOME-Studie wurden von September 2008 bis Februar 2011 544 ambulante Patienten der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten am Universitätsklinikum des Saarlandes als Studienteilnehmer eingeschlossen. Sie wurden bei ambulanter Vorstellung zur Studienteilnahme eingeladen oder telefonisch rekrutiert und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Das Untersuchungsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes genehmigt. Die Patientenrekrutierung erfolgte im Rahmen eigenständiger Promotionsarbeiten.

2.1.2 Einschlusskriterien

Die eGFR wurde als Parameter für die Einteilung der Stadien der chronischen Nierenerkrankung in der CARE FOR HOME-Studie nach der MDRD („Modification of Diet in Renal Disease Studie“) 4-Formel errechnet (56). In die CARE FOR HOME-Studie wurden Patienten in den Stadien G2-4 nach KDIGO eingeschlossen, was einer eGFR von 15-90 ml/min/1,73 m² entspricht. Bei Patienten im KDIGO-Stadium G 2 musste mindestens eines der folgenden Kriterien zusätzlich vorliegen:

- persistierende Albuminurie > 17/25 (Männer / Frauen) mg/g Kreatinin
- persistierende glomeruläre Hämaturie
- erhöhtes Plasma-Cystatin C (> 1,05 mg/l)
- erhöhtes Plasma-Kreatinin [> 1,2 mg/dl (Männer) / > 1,0 g/dl (Frauen)]
- bioptisch gesicherte Nierenerkrankung
- hereditäre Nierenerkrankung

2.1.3 Ausschlusskriterien

Zum Ausschluss aus der Studie führte:

- das Vorliegen der KDIGO-Stadien G1 oder G5
- eine bestehende HIV-Infektion
- die Einnahme von Immunsuppressiva
- ein zum Zeitpunkt der Untersuchung klinisch apparent fieberhafter oder antibiotikapflichtiger Infekt
- ein aktives Malignom
- ein zu Studienbeginn erhöhtes C-reaktives Protein (CRP) > 50 mg/l
- ein akutes Nierenversagen bei Verdopplung des Serum-Kreatinins binnen vier Wochen
- eine hämatologische Systemerkrankung

2.2 Diagnostik

2.2.1 Blut- und Urindiagnostik

Die laborchemische Analyse von nox-PTH, iPTH und Vitamin D wurden im MVZ Labor Dr. Limbach in Heidelberg aus tiefgefrorenen Serum- und Plasmaproben der Probanden durchgeführt, welche bei Studieneinschluss der Probanden asserviert wurden.

2.2.2 Bestimmung von Vitamin D

Bestimmungsmethoden:

Die Messung von 1,25(OH)₂-Vitamin D₃ erfolgt aus Serum mittels CLIA der Firma Diasorin auf dem Analysegerät LIAISON XL.

Bei dem LIAISON XL handelt sich um ein vollautomatisches Analysegerät. Die Messung erfolgt anhand eines dreistufigen Sandwich-Assays, welcher ein rekombinantes Fusionsprotein zum Erkennen des Moleküls 1,25(OH)₂-Vitamin D₃ benutzt. Der daraus gebildete Komplex wird schließlich mittels eines monoklonalen Antikörpers erkannt und gemessen.

2.2.3 Bestimmung von PTH intakt

Die Messung dient zur quantitativen Bestimmung von PTH intakt im EDTA-Plasma und wird mittels ECLIA Roche Diagnostics auf dem Analysegerät MODULAR E170 durchgeführt.

Während der ersten Inkubation wird mittels Sandwichprinzip ein Komplex aus einem biotinylierten, monoklonalen PTH-intakt-spezifischen Antikörper und einem mit Ruthenium-Komplex markierten, monoklonalen PTH-intakt-spezifischen Antikörper mit dem intakten Parathormon der Probe gebildet. Nach Zugabe von mit Streptavidin beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex während der zweiten Inkubation über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkungen an der Festphase gebunden.

Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden mit ProCell (Substrat) die ungebundenen Substanzen entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenz-Emission induziert und mit Hilfe eines Photomultipliers gemessen.

Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzien-Barcode mitgelieferte Masterkurve Gerätespezifisch generiert.

2.2.4 Bestimmung von nox-PTH

Die Messung dient zur quantitativen Bestimmung von PTH-nox im EDTA-Plasma. Hierfür erfolgt eine Depletion von oxidiertem PTH durch Immunaффinitätssäulen der Firma Immundiagnostik und anschließend eine Messung von nicht-oxidiertem, intaktem PTH mittels ECLIA-Technologie (Elektro-Chemilumineszens Immunoassay) auf dem Analysegerät MODULAR E170 der Firma Roche Diagnostics.

Die Immunaффinitätssäulen basieren auf einer spezifischen Antikörper-PTH-Bindungstechnologie. In den Immunaффinitätssäulen befindet sich ein Gelbett mit spezifischen Antikörpern für oxidiertes PTH. Diese Antikörper binden oxidiertes PTH in einer Probe so, dass nur noch das biologisch aktive, nicht-oxidierte PTH in dem anschließenden Sandwichtest des PTH-intakt auf dem MODULAR E170 nachgewiesen werden kann.

Zu den Materialien dieser Bestimmungsmethode gehören 300 µl tiefgefrorenes Plasma, MODULAR E170, Zentrifuge, Überkopfmischer, PTH-nox-Immunsäulen, Eppendorfhütchen, Schaumstoffständer und OLA Röhrchen.

2.2.5 Bestimmung von FGF-23

Die Messung der C-terminalen FGF-23-Plasma-Spiegel erfolgte anhand etablierter ELISA-Technik im nephrologischen Forschungslabor der Klinik für Innere Medizin IV des Universitätsklinikums des Saarlands. Es wurde der ELISA der Firma Immutopics (San Clemente, CA, USA) verwendet. Die Messung der C-terminalen FGF-23-Plasma-Spiegel erfolgte im Rahmen einer eigenständigen Promotionsarbeit.

Bei der Messung von FGF-23 können zwei Methoden unterschieden werden. Mit Hilfe des Human Second Generation ELISA können in Heparinplasma, EDTA und Zellkulturen das C-terminale oder das intakte FGF-23 gemessen werden. Die häufiger verwendete Methode ist die Messung des C-terminalen FGF-23 (57, 58).

Ein Sandwich ELISA dient zur quantitativen Bestimmung des C-terminalen FGF-23. Das Testkit besteht aus einer mit Streptavidin beschichteten Mikrotiterplatte und 2 polyklonalen Antikörpern der Ziege, welche an Epitope am carboxylterminalen Ende von humanem FGF-23 binden und Tetramethylbenzidin (TMB) zum Kolorieren der Komplexe. Ein Antikörper ist biotyniliert, während der zweite Antikörper mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist (HRP).

Plasma + Biotin-Anti hFGF-23 + hFGF-23 + Anti hFGF-23-HRP → Immunkomplex

Nach dem Abwaschen des nicht gebundenen Materials wird das Substrat Tetramethylbenzidin TMB hinzugegeben, woraufhin die gebundene Peroxidase einen Farbstoff freigibt. Die Färbung ist direkt proportional mit der FGF-23-Konzentration im Plasma.

2.3 Anthropometrische Daten

2.3.1 Körpergröße, Körpergewicht, Body-Mass-Index

Jeder Proband wurde bekleidet auf einer geeichten digitalen Waage auf 100 g genau gewogen. Die Körpergrößenmessung erfolgte mit Hilfe einer Messlatte am aufrechtstehenden, barfüßigen Probanden. Mit Hilfe der Formel für den Body-Mass-Index ließ dieser sich hieraus berechnen.

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \text{Körpergewicht (kg)} / \text{Körpergröße (m)}^2$$

2.3.2 Taillenumfang, Hüftumfang, Hüft-Taillen-Quotient

Zur Abschätzung der Verteilung des Körperfettes lässt sich der Hüft-Taillen-Quotient (waist-hip-ratio, Englisch) verwenden. Dieser lässt sich als Quotient aus Hüftumfang in Zentimetern (Messung in Höhe des Trochanter major) sowie Taillenumfang ebenfalls in Zentimetern (Messung zwischen Rippenbogen und Crista iliaca) berechnen.

$$\text{Hüft-Taillen-Quotient} = \text{Hüftumfang (cm)} / \text{Taillenumfang (cm)}$$

2.4 Erfassung des kardiovaskulären Risikos

2.4.1 Blutdruckmessung

Zur nicht-invasiven Blutdruckmessung wurde nach fünfminütiger Ruhezeit der Blutdruck am rechten und linken Oberarm in sitzender Position nach einem standardisierten Protokoll mit einem automatischen Messgerät (DINAMAP ® PROCARE Auscultatory 100) der Firma SOMA Technology, USA, gemessen.

2.4.2 Fragebogen

Um kardiovaskuläre Risikofaktoren und kardiovaskuläre Komorbiditäten zu erfragen, wurde ein standardisierter Fragebogen verwendet.

Zu Beginn wird erfasst, ob eine koronare, zerebrovaskuläre oder peripher-arterielle Gefäßerkrankung bereits vorliegt. Anschließend erfolgt die Quantifizierung der sportlichen Aktivität. Hierfür wird die Anzahl der Wochentage mit sportlicher Betätigung erfragt, wobei diese mindestens 30 Minuten andauern und zum Schwitzen führen soll. Im Gegenzug hierzu wird die Inaktivität in mit Fernsehen verbrachten Stunden berechnet.

Der Nikotinkonsum wird dokumentiert und solche Teilnehmer als Raucher angeführt, die in den letzten vier Wochen vor Studieneinschluss mindestens eine Zigarette geraucht haben. Zudem werden die Zeit des aktiven Rauchens, der Zeitpunkt des letzten Zigarettenkonsums und die Anzahl der täglich gerauchten Zigaretten dokumentiert.

Der Alkoholkonsum wird in Gläsern pro Woche erhoben, wobei hier zwischen den verschiedenen Getränkesorten Rotwein, Weißwein, Bier und Spirituosen unterschieden wird. Für Weiß- und Rotwein gelten 120 ml als Glas, für Bier 350 ml und für Spirituosen 45 ml.

Abschließend wird im Interview nach Tumorerkrankungen, chronisch-entzündlichen Darm- oder Lebererkrankungen, einer akuten Infektionskrankheit in den letzten 5 Tagen vor Studieneinschluss sowie nach der aktuellen Medikation gefragt.

2.5 Studienendpunkte

Als Studienendpunkte wurden sowohl renale, atherosklerotische Ereignisse und kardiale Dekompensation definiert:

- Renale Endpunkte umfassen verdoppeltes Serum-Kreatinin, Reduktion der eGFR $< 50\%$ seit Baseline oder das Eintreten einer Dialysepflichtigkeit.
- Atherosklerotische Ereignisse beinhalten akuter Herzinfarkt, interventionelle oder chirurgische Revaskularisierung der Koronararterien, Zerebralarterien oder peripherer Arterien, TIA/Schlaganfall mit Symptomen ≥ 24 Stunden, nicht-traumatische Amputationen proximal des Sprunggelenks.
- Kardiale Dekompensation mit progredienter Dyspnoe und zusätzlichen klinischen Zeichen der kardialen Dekompensation (Ödeme, Anasarka) oder radiologischen Zeichen der kardialen Dekompensation (Kardiomegalie, pulmonalvenöse Stauung, Pleuraergüsse) mit der Notwendigkeit einer stationären Aufnahme.

2.6 Nachbeobachtung (Follow-up)

Jährlich wird für jeden Probanden ein Termin zur ambulanten Nachbeobachtung vereinbart. In Einzelfällen, beispielsweise wenn ein Termin nicht wahrgenommen werden kann, werden die Informationen auch telefonisch oder über den Hausarzt mittels eines standardisierten Fragebogens erhoben.

Das jährliche Follow-up verläuft ähnlich wie die Eingangsuntersuchung und umfasst eine erneute Entnahme von Vollblut, eine standardisierte Erfassung des Körpergewichtes sowie nichtinvasive Blutdruckmessung inklusive 24-Stunden-Blutdruckmessung. Hinzu kommt eine standardisierte Bestimmung der Hautfaltendicke, eine Sammlung von 24-Stunden-Urin, die Aufzeichnung eines Elektrokardiogramms sowie die Durchführung einer Echokardiographie. Zudem erfolgte die erneute Erhebung eines standardisierten Fragebogens, ebenfalls durch den Untersucher. Die Durchführung des jährlichen Follow-ups war Bestandteil eigenständiger Promotionsarbeiten.

Für die prospektiven Analysen in dieser Promotionsarbeit wurden Patienten untersucht, die von September 2008 bis Dezember 2014 rekrutiert wurden und bezüglich eines Auftretens der vordefinierten Endpunkte bis Dezember 2015 nachbeobachtet wurden.

2.7 Ergebnisdokumentation und statistische Auswertung

Die Auswertung der Messdaten erfolgte computergestützt. Eine Verwaltung der Daten erfolgt zunächst über die Programme Microsoft® Excel oder Access.

Datenerfassung und statistische Analysen wurden mittels Statistik Software SPSS (Statistical Product and Service Solutions, Version 17.0 Chicago, Illinois, USA), SimpleStat Test (©2007-2011 by Marley W. Watkins) und PASW Statistics 18 durchgeführt.

Kontinuierliche Variablen werden als Mittelwerte \pm Standardabweichung, bei Abweichung von der Normalverteilung als Median [25. und 75. Perzentile] angegeben und mittels T-Test (zwei Gruppen) oder mittels ANOVA mit gewichtetem linearen Term (mehr als zwei Gruppen) verglichen. Kategoriale Variablen werden als absolute Werte und als prozentualer Anteil an dem Gesamtkollektiv angegeben und mittels Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test) verglichen. Zusammenhänge zwischen zwei kontinuierlichen Variablen werden als Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % wird $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant definiert.

Albuminurie, FGF-23-, iPTH-, nox-PTH-, pro-BNP- und C-Reactive-Protein (CRP)-Spiegel werden bei fehlender Normalverteilung als Median (Interquartil-Abstand) oder logarithmiert wiedergegeben. Nachdem die Patienten anhand ihrer iPTH-, nox-PTH-, FGF-23- und Vitamin D-Spiegel in Tertile unterteilt wurden, wurden die Parameter mit Hilfe von Kaplan-Meier-Analysen und den darauffolgenden log-rank-Analysen auf ereignisfreies Überleben getestet.

Zusätzlich wurden univariate und multivariate Cox-Regressionsanalysen nach Korrekturen für die Nierenfunktion, die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren und die anderen etablierten CKD-MBD-Parameter durchgeführt.

Zusätzlich wurde im Rahmen von ROC-Analysen die diagnostische Genauigkeit der untersuchten CKD-MBD-Parameter im Hinblick auf die Prädiktion der vordefinierten Studienendpunkte innerhalb der ersten 2 Jahre nach Studieneinschluss geprüft.

3 Ergebnisse

3.1 Baseline Charakteristika

In unserer CARE FOR HOME-Studie wurden 544 chronisch nierenkranke Patienten in den CKD-Stadien G2-4 untersucht. Die Baseline-Charakteristika der 544 Probanden sind in Tabelle 2 dargestellt. Das mittlere Serum-Kreatinin der Patienten beträgt $1,55 \pm 0,62$ mg/dl, die mittlere eGFR 45 ± 16 ml/min. Nach Stratifikation der Patienten in KDIGO-Stadien in Tabelle 4 weisen die meisten Patienten eine chronische Nierenerkrankung im Stadium G3 auf. Patienten in fortgeschrittenen KDIGO-Stadien sind durch höheres Alter, höhere kardiovaskuläre Komorbidität, höhere Albuminurie sowie höhere Plasma-Phosphatwerte charakterisiert (Tabelle 4). Die Medikamentenanamnese stellt heraus, dass diese Patienten signifikant häufiger mit Vitamin D-Präparaten therapiert werden (Tabelle 3).

Tabelle 2: Baseline Charakteristika der 544 Patienten.

Baseline Charakteristika	N = 544
Weiblich (%)	233 (42)
Alter (Jahre)	65 ± 12
BMI	30 ± 5
BP systolisch	152 ± 24
BP diastolisch	85 ± 12
Raucher (%)	57 (10)
DM (%)	207 (38)
Prävalente CAD (%)	120 (22)
Prävalente CAD-AMI (%)	66 (12)
Prävalente CVD (%)	53 (9)
Prävalente PAD (%)	36 (6)
Prävalente CAD (%)	171 (31)
eGFR (ml/min/1,73m ²)	45 ± 16
Serum-Kreatinin (mg/dl)	$1,6 \pm 0,6$
Calcium (mmol/l)	$2,3 \pm 0,1$
FGF-23 (rU/ml)	99 (IQR 64-157)

Baseline Charakteristika	N = 544
1,25-(OH) Vitamin D ₃ (pg/ml)	21 (IQR 13-32)
25-OH Vitamin D ₃ (pg/mg/ml)	23 ± 13
iPTH (pg/ml)	60 (IQR 42-91)
nox-PTH (pg/ml)	9 (IQR 7-13)
Phosphat (mg/dl)	3,4 ± 0,7

Angegeben sind Anzahl (Prozentwert), Mittelwerte- ± Standardabweichung bzw. Median (IQR). IQR: Interquartile Range; iPTH: intaktes Parathormon; BMI: Body Mass Index; DM: Diabetes mellitus; eGFR: estimated glomeruläre Filtrationsrate; BP: Blood Pressure; nox-PTH: nicht oxidiertes Parathormon; CAD: Coronary Artery Disease; PAD: Peripheral Artery Disease.

Tabelle 3: Baseline Charakteristika Medikation.

Baseline Charakteristika	N = 544
Schleifendiuretika (%)	238 (43)
Thiazide (%)	280 (51)
Aldosteron Antagonisten (%)	122 (22)
Beta Blocker (%)	374 (68)
Calcium Kanal Blocker (%)	282 (51)
Statine (%)	278 (51)
Nitrate (%)	39 (7)
Natives Vitamin D (%)	242 (44)
Calcitriol (%)	36 (6)

In Tabelle 3 ist die Medikamentenanamnese dargestellt. Zu sehen ist die Anzahl der Patienten in Prozent, welche unter Behandlung mit Diuretika, Beta-Blocker, Calcium-Kanal-Blocker, Statine und Vitamin D stehen.

Tabelle 4: Baseline Charakteristika stratifiziert nach KDIGO-Stadien.

Charakteristikum	CKD-Stadium KDIGO G2	CKD-Stadium KDIGO G3a	CKD-Stadium KDIGO G3b	CKD-Stadium KDIGO 4
	N = 114	N = 187	N = 146	N = 97
Alter (Jahre)	58 ± 11	65 ± 12	68 ± 11	68 ± 11
BMI	30 ± 5	30 ± 5	30 ± 6	29 ± 4
BP systolisch (mmHg)	148 ± 20	155 ± 24	149 ± 24	154 ± 27
BP diastolisch (mmHg)	88 ± 12	87 ± 12	81 ± 12	83 ± 12
eGFR (MDRD)	69 ± 6	52 ± 4	38 ± 4	23 ± 4
Phosphat (mg/dl)	3,0 ± 0,5	3,3 ± 0,5	3,4 ± 0,7	3,8 ± 0,6
Calcium (mmol/L)	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1
Cholestorol (mg/dl)	195 ± 39	192 ± 43	188 ± 43	190 ± 46
Triglyceride (mg/dl)	156 ± 122	160 ± 116	165 ± 102	175 ± 123
LDL C (mg/dl)	118 ± 34	113 ± 37	112 ± 35	114 ± 38
HDL C (mg/dl)	52 ± 16	52 ± 17	50 ± 16	49 ± 17
Cystatin C (mg/L)	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,8 ± 0,4	2,5 ± 0,4
Creatinine (mg/dl)	1,02 ± 0,14	1,25 ± 0,19	1,65 ± 0,2	2,60 ± 0,5
Albuminurie (g/gKreatinin)	0,02 (0,007/0,106 IQR)	0,02 (0,005/0,075 IQR)	0,04 (0,010/0,170 IQR)	0,13 (0,040/0,670 IQR)
FePi (%)	15 (11/20 IQR)	19 (13/24 IQR)	26 (20/34 IQR)	39 (29/47 IQR)
Pro-BNP (pg/ml)	83 (46/165 IQR)	131 (71/313 IQR)	336 (155/1096 IQR)	547 (283/1477 IQR)
iPTH (pg/ml)	46 (36/61 IQR)	50 (37/67 IQR)	72 (48/108 IQR)	119 (71/177 IQR)

Charakteristikum	CKD-Stadium KDIGO G2	CKD-Stadium KDIGO G3a	CKD-Stadium KDIGO G3b	CKD-Stadium KDIGO 4
nox-PTH (pg/ml)	8 (7/10 IQR)	8 (7/11 IQR)	10 (8/14 IQR)	13 (10/19 IQR)
Calcitriol (pg/ml)	33 (27/44 IQR)	30 (23/35 IQR)	28 (22/35 IQR)	24 (18/30 IQR)
FGF-23 (rU/ml)	64 (48/89 IQR)	79 (57/107 IQR)	128 (92/196 IQR)	179 (140/296 IQR)

Angegeben sind Anzahl (Prozentwert), Mittelwerte \pm Standardabweichung bzw. Median (IQR). Albuminurie ist aufgrund fehlender Normalverteilung als Median (Interquartile-Range) angegeben. CKD: Chronic kidney disease; BP: Blutdruck; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; HDL-C: High density Lipoprotein-Cholesterin; LDL-C: Low density Lipoprotein-Cholesterin; BMI: Body mass index; eGFR: estimated (geschätzte) glomeruläre Filtrationsrate; Pro-BNP: brain natriuretic peptide; iPTH: intaktes Parathormon; nox-PTH: nicht-oxidiertes Parathormon; FePi: fractional excretion of phosphate (fraktionelle Phosphatausscheidung, Urin).

3.2 Untersuchte CKD-MBD-Parameter stratifiziert nach CKD-Stadien

In den Abbildungen 2 bis 5 sind Boxplots abgebildet, die Median und IQR der jeweils untersuchten CKD-MBD-Parameter stratifiziert nach CKD-Stadien darstellen.

Es werden die Spiegel der CKD-MBD-Biomarker nox-PTH, iPTH, FGF-23 und Calcitriol veranschaulicht (Median, IQR und Ausreißer). Werte, die 1½-mal höher sind als der IQR werden durch Kreise und Werte, die bis zu 3x höher sind als der IQR werden durch Sternchen dargestellt.

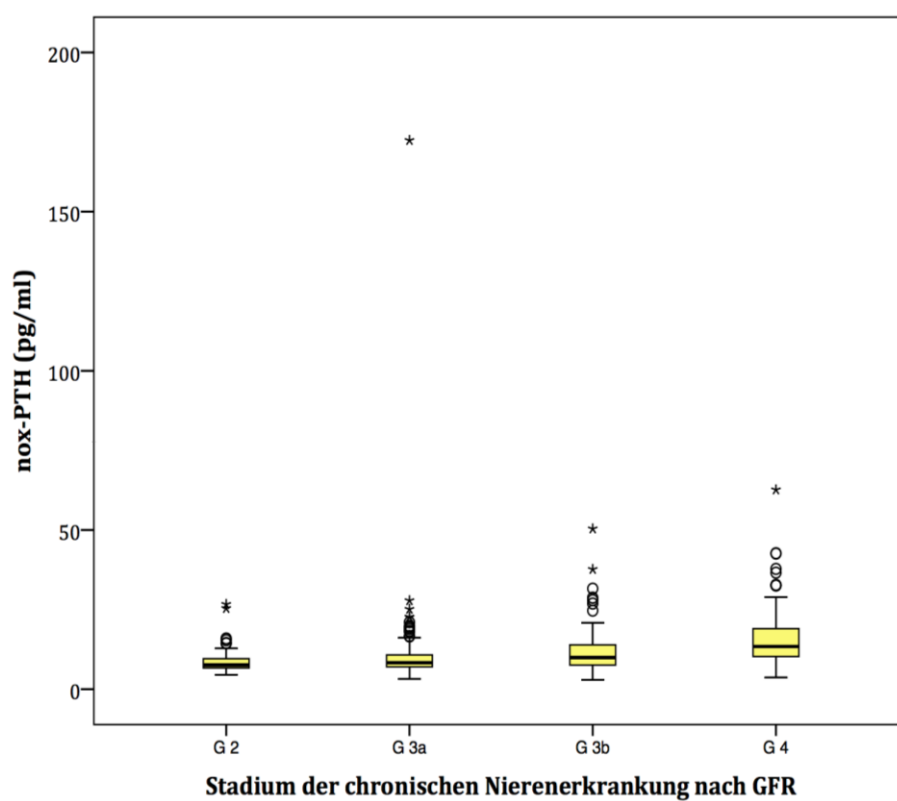


Abbildung 2: Boxplot nox-PTH nach GFR-Stadien.

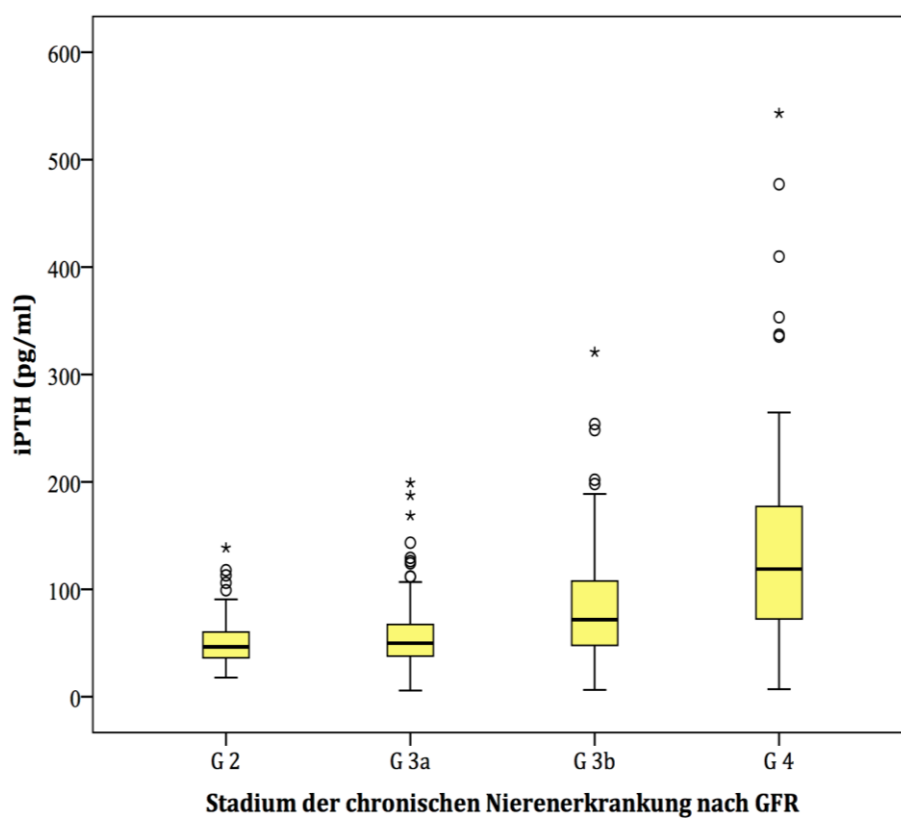


Abbildung 3: Boxplot iPTH nach GFR-Stadien.

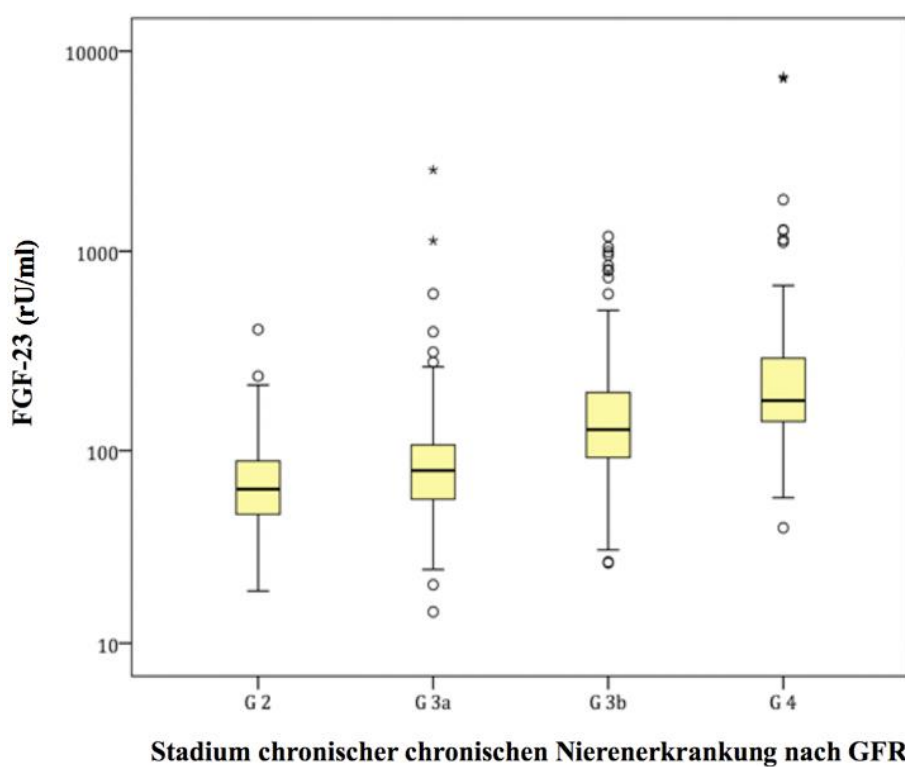


Abbildung 4: Boxplot FGF-23 nach GFR-Stadien

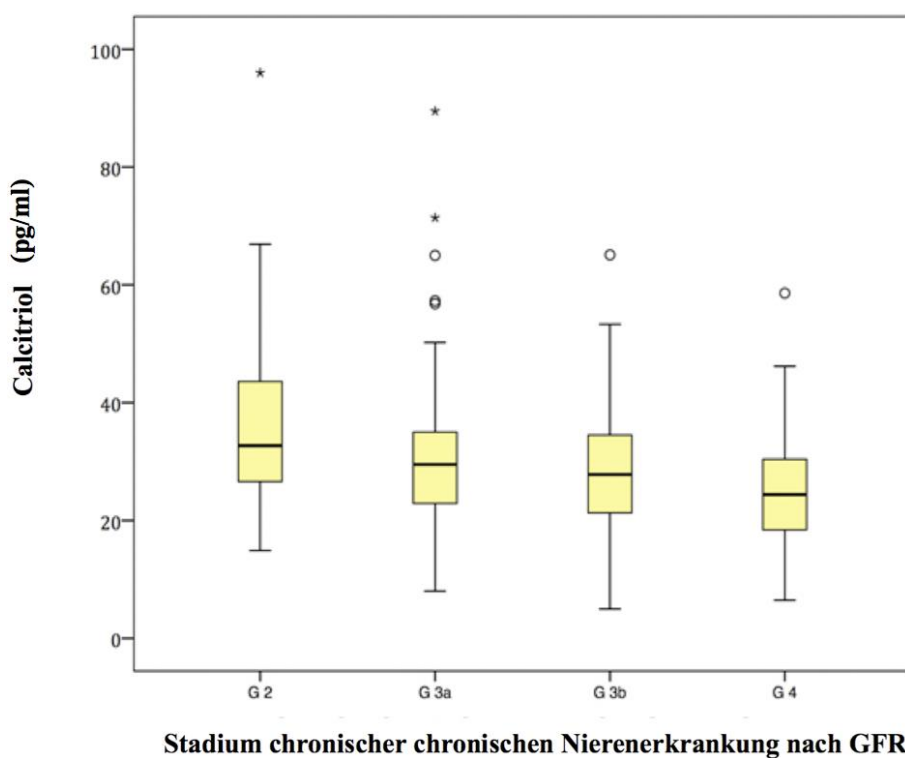


Abbildung 5: Boxplot Calcitriol nach GFR-Stadien.

3.3 Korrelationskoeffizienten aller untersuchten CKD-MBD Parameter

Tabelle 5: Korrelationstabelle der CKD-MBD Parameter.

	eGFR	Phosphat	Calcium	iPTH	Nox-PTH	Calcitriol	FGF-23
eGFR	-	R = -0,39 <i>p</i> < 0,001	R = 0,05 <i>p</i> = 0,235	R = -0,51 <i>p</i> < 0,001	R = -0,24 <i>p</i> < 0,001	R = 0,29 <i>p</i> < 0,001	R = -0,23 <i>p</i> < 0,001
Phosphat	R = -0,39 <i>p</i> < 0,001	-	R = -0,67 <i>p</i> = 0,118	R = 0,08 <i>p</i> = 0,052	R = 0,006 <i>p</i> = 0,126	R = -0,29 <i>p</i> < 0,001	R = 0,341 <i>p</i> < 0,001
Calcium	R = 0,05 <i>p</i> = 0,235	R = -0,67 <i>p</i> = 0,118	-	R = -0,09 <i>P</i> = 0,042	R = -0,07 <i>p</i> = 0,067	R = -0,03 <i>p</i> = 0,554	R = -0,08 <i>p</i> = 0,068
iPTH	R = -0,51 <i>p</i> < 0,001	R = 0,08 <i>P</i> = 0,052	R = -0,09 <i>P</i> = 0,042	-	R = 0,65 <i>p</i> < 0,001	R = 0,01 <i>p</i> = 0,844	R = 0,41 <i>p</i> < 0,001
Nox-PTH	R = -0,24 <i>p</i> < 0,001	R = 0,006 <i>p</i> = 0,126	R = -0,07 <i>p</i> = 0,067	R = 0,65 <i>p</i> < 0,001	-	R = 0,02 <i>p</i> = 0,602	R = 0,286 <i>P</i> < 0,001
Calcitriol	R = 0,29 <i>p</i> < 0,001	R = -0,29 <i>p</i> < 0,001	R = -0,03 <i>p</i> = 0,554	R = 0,01 <i>p</i> = 0,844	R = 0,02 <i>p</i> = 0,602	-	R = -0,09 <i>p</i> = 0,027
FGF-23	R = -0,23 <i>p</i> < 0,001	R = 0,341 <i>p</i> < 0,001	R = -0,08 <i>p</i> = 0,068	R = 0,41 <i>p</i> < 0,001	R = 0,286 <i>P</i> < 0,001	R = -0,09 <i>p</i> = 0,027	-

R: Korrelationskoeffizient; *p*: Signifikanzniveau; *eGFR*: estimated (geschätzte) glomeruläre Filtrationsrate; *iPTH*: intaktes Parathormon; *nox-PTH*: nicht oxidiertes Parathormon; *FGF-23*: Fibroblast Growth Faktor-23.

In Tabelle 5 sind die Korrelationskoeffizienten aller untersuchten CKD-MBD-Parameter der Studie dargestellt. Wie zu erwarten, ist die eGFR signifikant mit den Calcitriol-Spiegeln korreliert, wohingegen für iPTH, nox-PTH und FGF-23 jeweils eine inverse Korrelation mit der eGFR besteht.

Bei der Untersuchung wurde eine moderate Korrelation zwischen nox-PTH und iPTH gefunden. Darüber hinaus korrelierte sowohl nox-PTH als auch iPTH mit der eGFR und FGF-23, aber nicht mit Serumphosphat.

3.4 Prädiktive Eigenschaften von Biomarkern des Calcium-Phosphat Metabolismus

Während einer medianen Nachbeobachtungszeit von 3,9 Jahren kam es bei 114 Patienten zu einer kardialen Dekompensation, bei 54 Patienten traten atherosklerotische Ereignisse auf und bei 65 Patienten kam es zu renalen Ereignissen.

3.4.1 Endpunkt kardiale Dekompensation

Als kardiale Dekompensation wurde das Auftreten von klinisch manifester Herzinsuffizienz definiert. Eine Stratifizierung der Patienten anhand der iPTH-, nox-PTH-, FGF-23- und Vitamin D-Spiegel zu Studienbeginn in Tertile zeigte, dass die Patienten in der jeweils höchsten Tertile von iPTH (Abb. 7), nox-PTH (Abb. 8) und FGF-23 (Abb. 10) ein signifikant höheres Risiko für das Auftreten einer kardialen Dekompensation vorwiesen als Patienten in der niedrigsten Tertile. Keine Signifikanz ergab sich für aktives Vitamin D (Abb. 9).

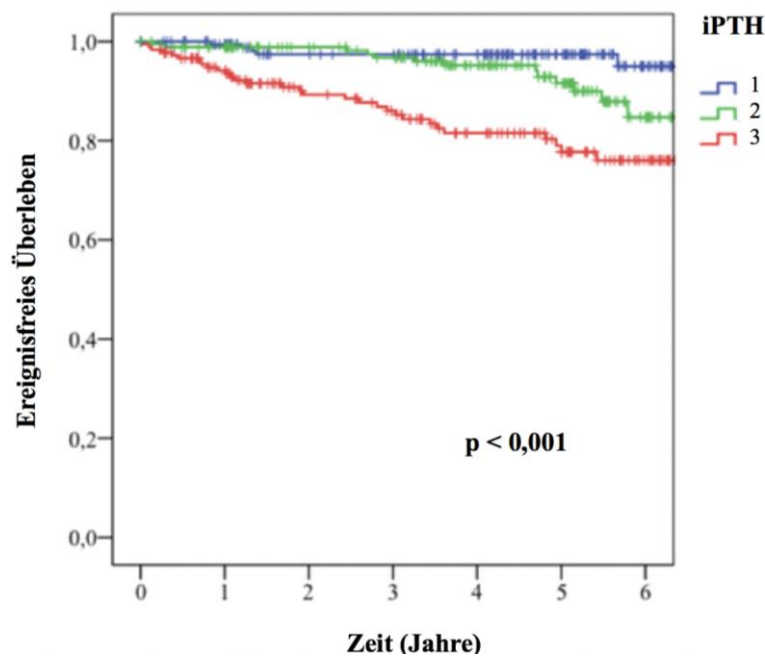


Abbildung 6: PTH-intakt-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.

Einteilung von PTH-intakt in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen, wobei Patienten in der höchsten Tertilen ein signifikant höheres Risiko für kardiale Dekompensationen aufweisen als Patienten in der ersten Tertile.

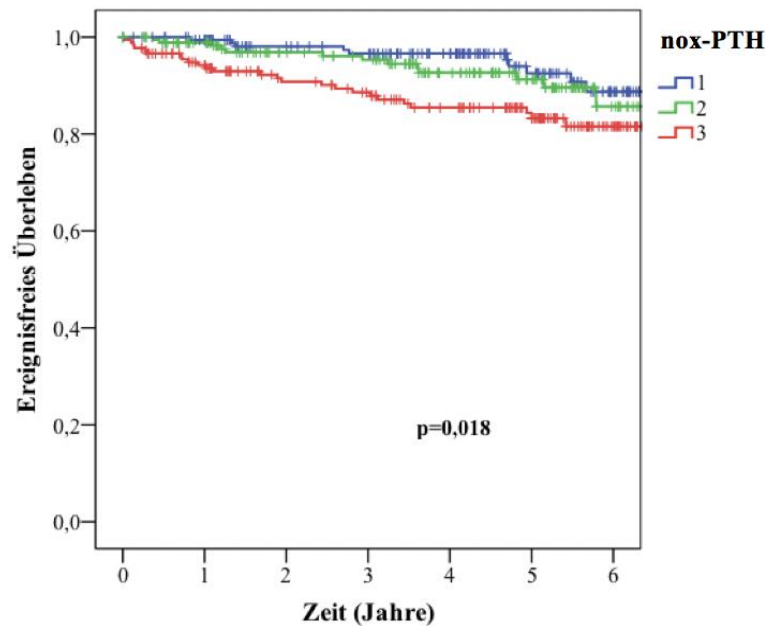


Abbildung 7: Nox-PTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.

Einteilung von nox-PTH in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. So weisen Patienten in der höchsten nox-PTH-Tertile signifikant häufiger kardiale Dekompensationen auf als Patienten in der 1. Tertile.

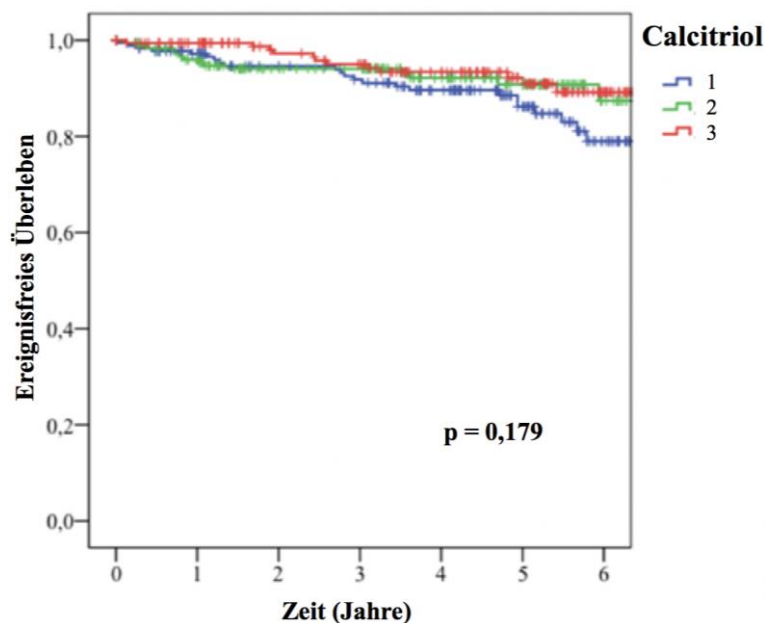


Abbildung 8: Aktive Vitamin D-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.

Einteilung von aktivem Vitamin D in Tertile, Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen.

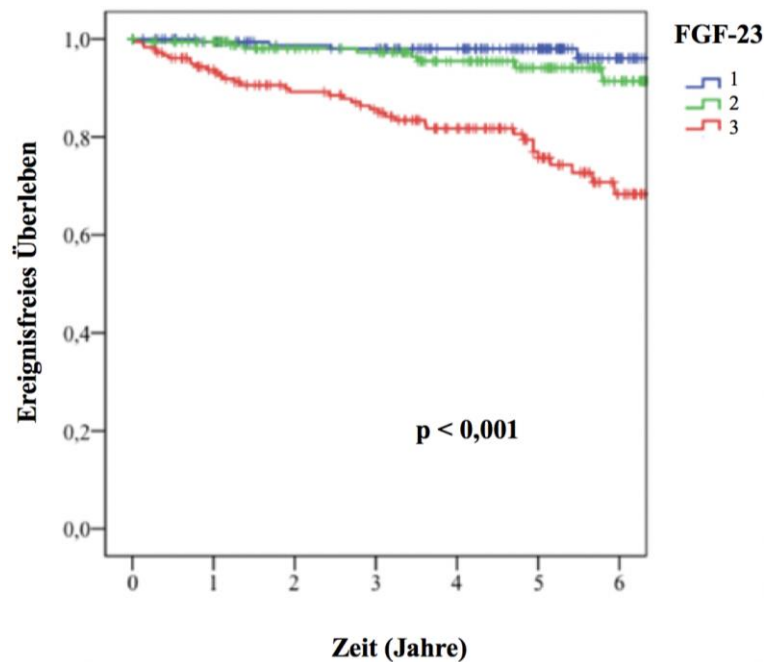


Abbildung 9: FGF-23-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt kardiale Dekompensation.

Einteilung von FGF-23 in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen. Patienten in der höchsten FGF-23-Tertile weisen signifikant häufiger den Endpunkt kardiale Dekompensation auf als Patienten in der 1. Tertile.

3.4.2 Endpunkt atherosklerotische Ereignisse

Als atherosklerotische Endpunkte wurde das Auftreten von klinisch manifesten atherosklerotischen Ereignissen definiert. Eine Stratifizierung der Patienten anhand der aktiven Vitamin D- (Abb. 11), iPTH- (Abb. 12), nox-PTH- (Abb. 13), und FGF-23- (Abb. 14) Spiegel zu Studienbeginn in Tertile zeigt, dass die Patienten in der jeweils höchsten Tertile signifikant häufiger einen atherosklerotischen Endpunkt erlitten als Patienten in der niedrigsten Tertile. Kein signifikanter Unterschied ergab sich zwischen den Tertilen für Calcitriol (Abb. 11).

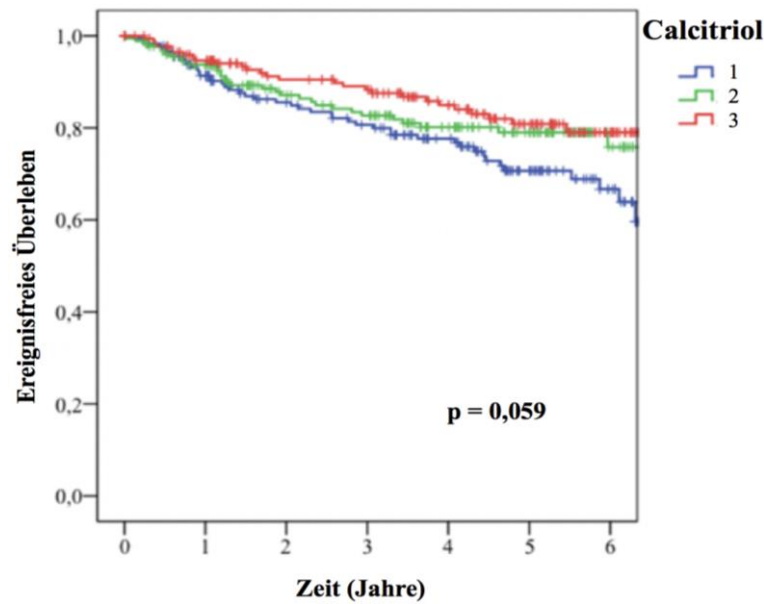


Abbildung 10: Aktive Vitamin D-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.
Stratifizierung der Vitamin D-Spiegel in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen.

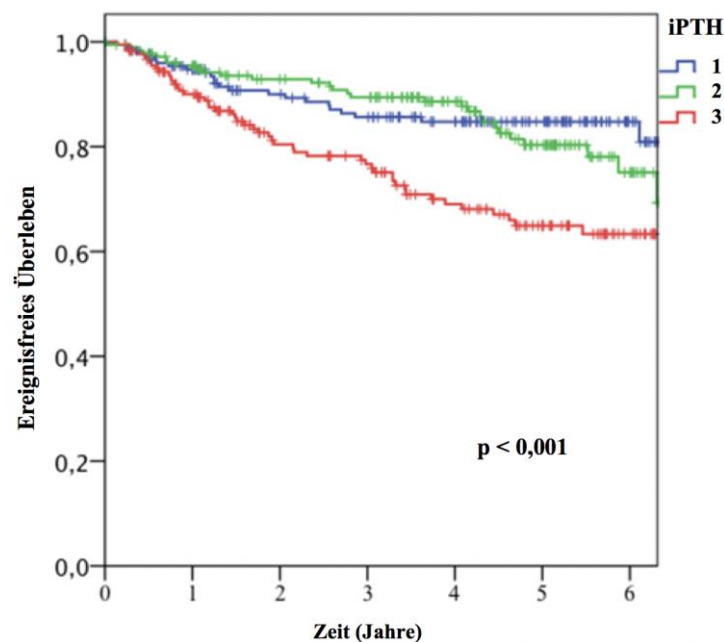


Abbildung 11: iPTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.
Einteilung von PTH-intakt in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen mit einem signifikant höheren Risiko in der höchsten versus der niedrigsten Tertile. So kam es im Vergleich zu Patienten in der höchsten Tertile bei Patienten in der niedrigsten Tertile signifikant seltener zu atherosklerotischen Ereignissen.

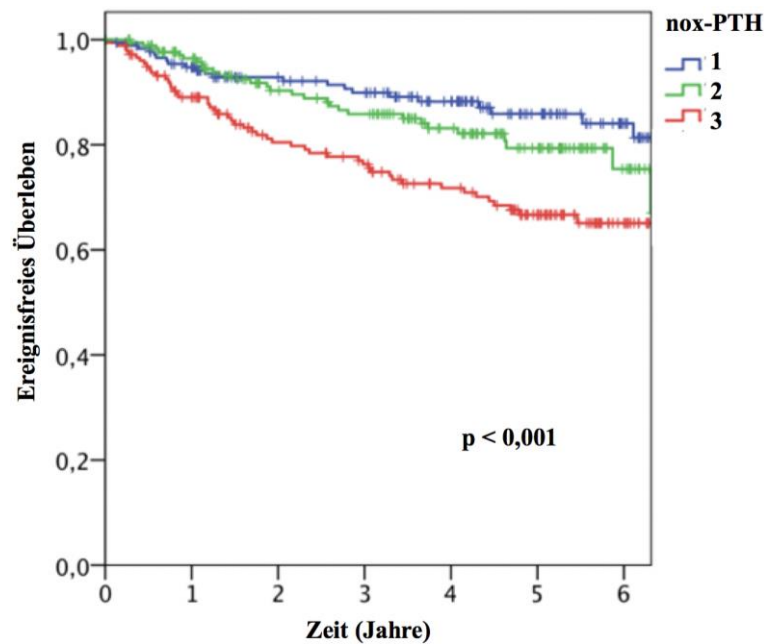


Abbildung 12: Nox-PTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.

Einteilung von nox-PTH in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen ($p < 0,001$). Patienten in der höchsten Tertile weisen signifikant häufiger atherosklerotische Ereignisse auf als Patienten in der niedrigsten Tertile.

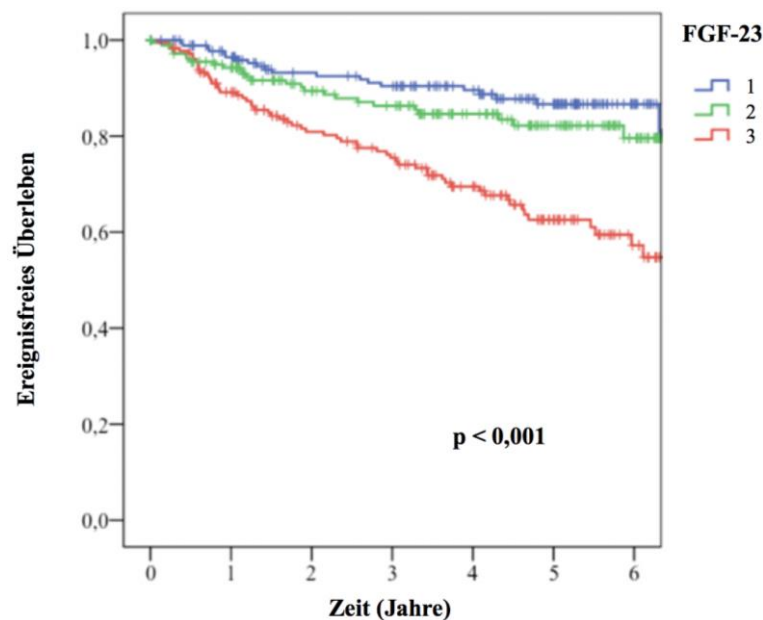


Abbildung 13: FGF-23-Tertile und ereignisfreies Überleben für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.

Einteilung von FGF-23 in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen. So kam es bei Patienten in der niedrigsten Tertile seltener zu atherosklerotischen Ereignissen.

3.4.3 Endpunkt renales Ereignis

Als renales Ereignis wurde eine Reduktion der eGFR $< 50\%$ Baseline und das Eintreten einer Dialysepflichtigkeit definiert.

Eine Stratifizierung der Patienten anhand der zu Studienbeginn gemessenen iPTH-, nox-PTH- und FGF-23-Spiegel in Tertile zeigt, dass Patienten in der höchsten iPTH- (Abb. 15), nox-PTH- (Abb. 16) und FGF-23-Tertile (Abb. 18) ein signifikant geringeres ereignisfreies Überleben für den Endpunkt renalere Ereignisse aufweisen. Für Calcitriol kehrt sich das Verhältnis um. Demnach zeigen die Patienten in der geringsten Vitamin D-Tertile (Tertile 1 in Abb. 17) das höchste Risiko für ein renales Ereignis.

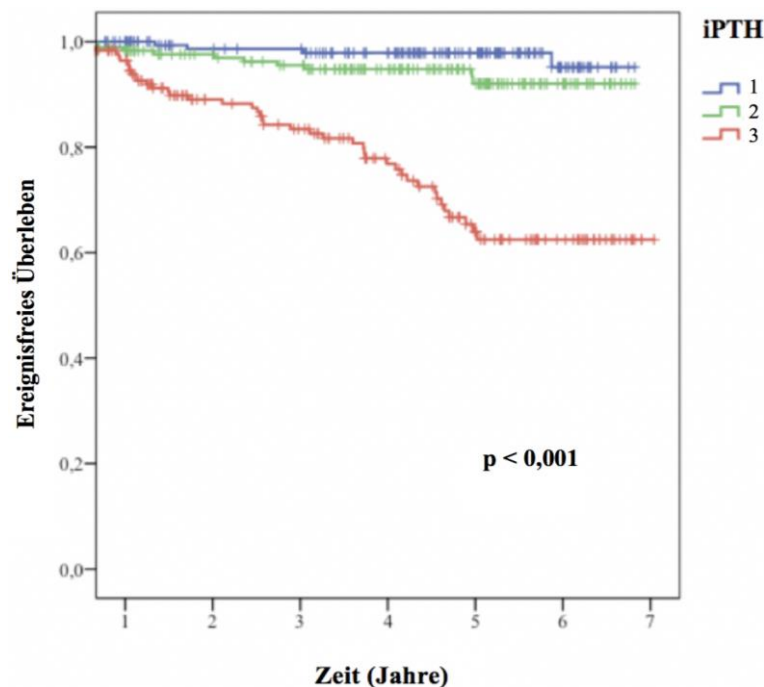


Abbildung 14: iPTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt.

Stratifizierung von PTH-intakt-Spiegel in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertile 1, blau), intermediär (Tertile 2, grün) und hoch (Tertile 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt ein signifikant schlechteres ereignisfreies Überleben für die höchste iPTH-Tertile. Das bedeutet, dass es bei Patienten mit verhältnismäßig hohen iPTH-Spiegeln häufiger zu renalere Ereignissen kam als bei Patienten mit Spiegeln in der niedrigsten Tertile.

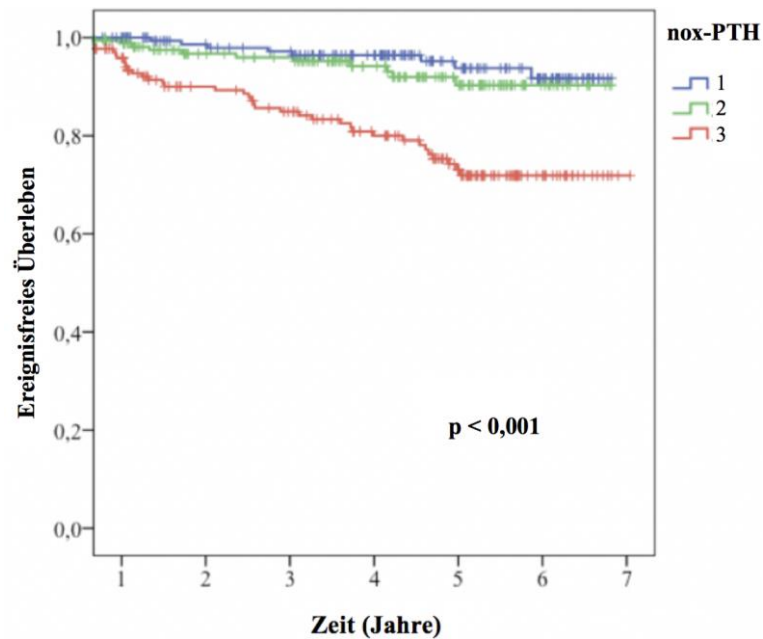


Abbildung 15: Nox-PTH-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt. Einteilung von nox-PTH in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen, wobei die Patienten in der höchsten Tertile ein signifikant schlechteres Überleben aufweisen als Patienten in der niedrigsten Tertile.

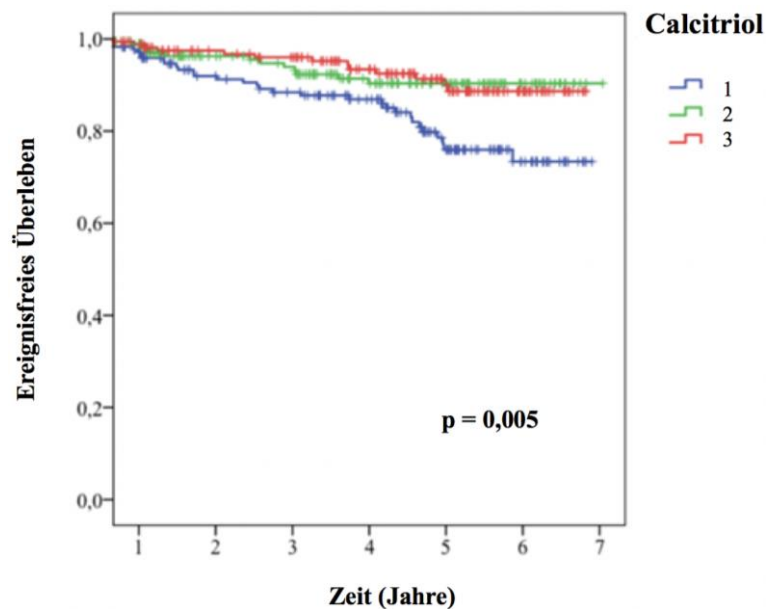


Abbildung 16: Aktive Vitamin D-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt. Einteilung von aktivem Vitamin D in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen. Hier zeigten Patienten in der höchsten Tertile ein signifikant schlechteres Überleben als Patienten in der niedrigsten Tertile.

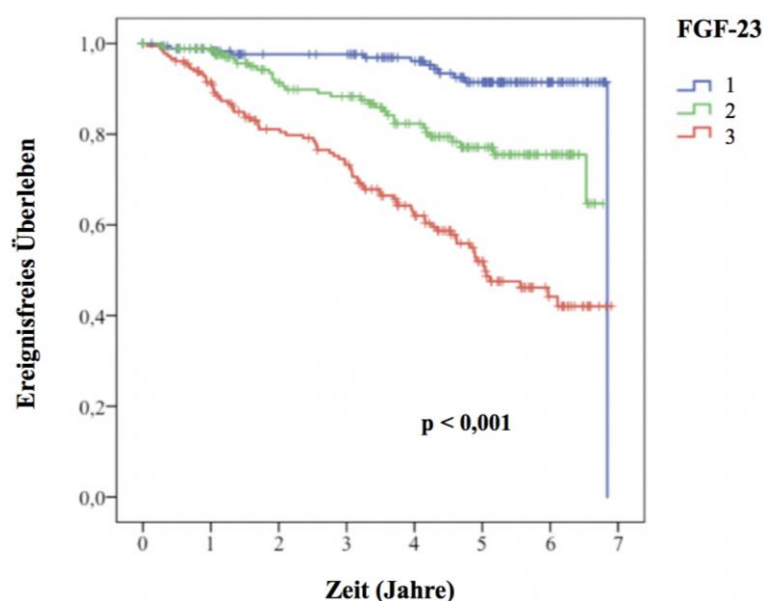


Abbildung 17: FGF-23-Tertile und ereignisfreies Überleben für den renalen Endpunkt. Einteilung von FGF-23 in Tertile. Konzentrationsbereiche niedrig (Tertil 1, blau), intermediär (Tertil 2, grün) und hoch (Tertil 3, rot). Die Kaplan-Meier-Analyse mit log-rank-Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tertilen, wobei die Patienten in der höchsten Tertile ein deutlich schlechteres Überleben aufweisen, als Patienten in der niedrigsten Tertile.

3.4.4 Receiver Operating Characteristic (ROC) Analyse der CKD-MBD-Parameter

Weiterhin wurden zum Vergleich der prädiktiven Wertigkeit der untersuchten CKD-MBD-Parameter für die Endpunkte kardiale Dekompensation, atherosklerotische Ereignisse und renale Ereignisse ROC-Analysen durchgeführt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Vergleich der diagnostischen Genauigkeit von CKD-MBD-Parametern für die Prädiktion der Studienendpunkte.

	Kardiale Dekompensation	Atherosklerotische Ereignisse	Renales Ereignisse
FGF-23	0,78	0,66	0,85
Nox-PTH	0,67	0,61	0,71
iPTH	0,73	0,60	0,79
Calcitriol	0,40	0,45	0,36

Die Werteangaben (Area under the Curve = AUC) beziehen sich auf die Fläche unter den jeweiligen ROC Kurven (Abb. 19-21).

Für den Endpunkt kardiale Dekompensation hatte FGF-23 mit einer AUC von 0,78 die höchste diagnostische Vorhersagekraft, gefolgt von iPTH mit einer AUC von 0,73. Die diagnostische Vorhersagekraft für den Endpunkt kardiale Dekompensationen ist für nox-PTH mit einer AUC von 0,67 geringer. Die geringste AUC, und somit schlechteste diagnostische Vorhersagekraft, weist Calcitriol mit einer AUC von 0,40 auf.

Für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse weisen FGF-23, nox-PTH und iPTH eine ähnliche Vorhersagekraft auf (FGF-23 AUC: 0,66, nox-PTH AUC: 0,61, iPTH AUC: 0,60). Die geringste AUC und somit schlechteste Vorhersagekraft weist erneut Calcitriol auf (AUC: 0,45).

Für den Endpunkt renales Ereignis weist FGF-23 mit einer AUC von 0,85 die höchste AUC auf, gefolgt von iPTH mit einer AUC von 0,79 und danach nox-PTH mit einer AUC von 0,71. Vitamin D weist mit 0,36 die geringste AUC auf.

In Abbildung 19 bis 21 sind die ROC-Kurven der einzelnen untersuchten CKD-MBD-Parameter für die Endpunkte renale Ereignisse (Abb. 19), atherosklerotische (Abb. 20) und kardiale Dekompensation (Abb. 21) dargestellt.

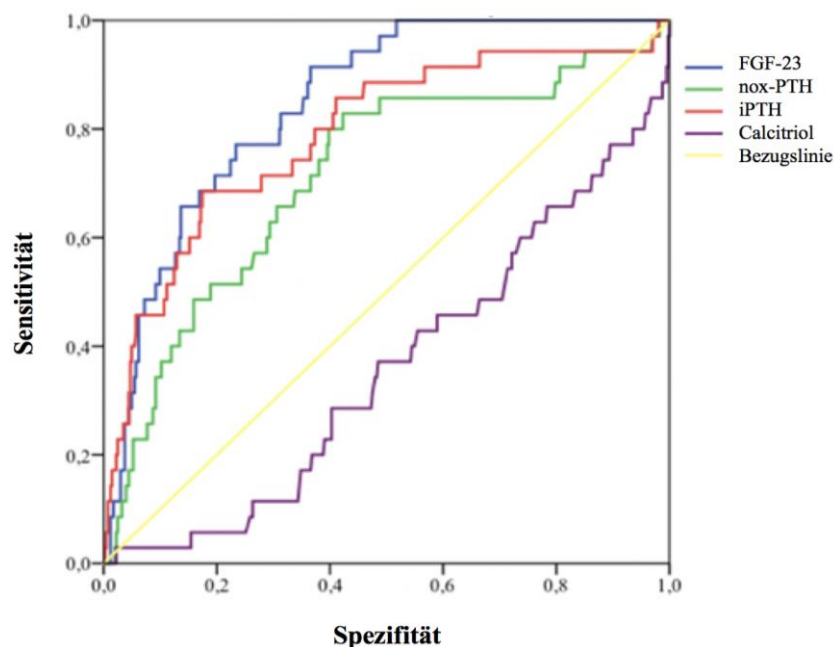


Abbildung 18: ROC Kurven der Parameter iPTH, nox-PTH, Calcitriol und FGF-23 für die Prädiktion von renalen Ereignissen.

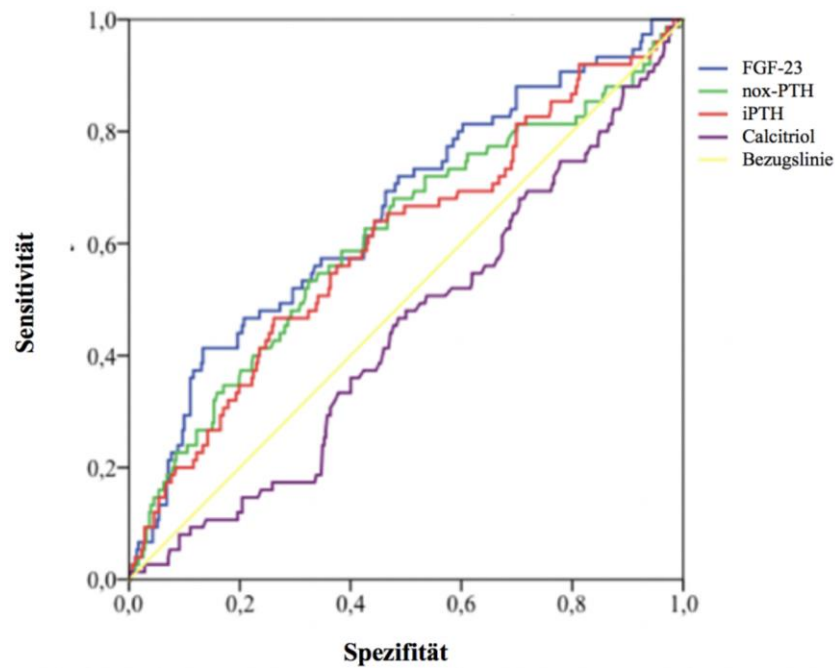


Abbildung 19: ROC Kurven der Parameter iPTH, nox-PTH, Calcitriol und FGF-23 für die Prädiktion von atherosklerotischen Ereignissen.

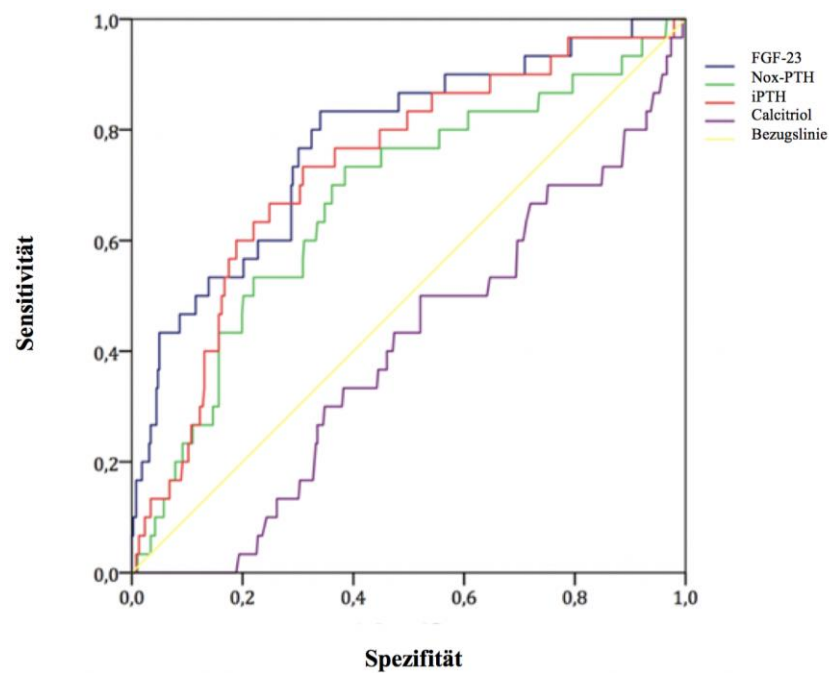


Abbildung 20: ROC-Kurven der Parameter iPTH, nox-PTH, Calcitriol und FGF-23 für die Prädiktion von kardialer Dekompensation.

3.4.5 Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Ergänzend zu den Kaplan-Meier-Analysen erfolgte die Adjustierung für potenzielle Störvariablen im Rahmen einer multivariaten Cox-Regressionsanalyse für das Auftreten atherosklerotischer Ereignisse, kardialer Dekompensationen und renaler Endpunkte.

In der univariaten Analyse zeigte sich für den Endpunkt atherosklerotische Ereignisse FGF-23 als signifikanter Prädiktor, wobei die Patienten in der höchsten FGF-23-Tertile ein signifikant erhöhtes Risiko für atherosklerotische Ereignisse aufwiesen. Patienten mit Calcitriol-Spiegeln in der niedrigsten Tertile zeigten eine Tendenz zu einem erhöhten Risiko für den kardiovaskulären Endpunkt, jedoch ohne statistische Signifikanz.

In der univariaten Regressionsanalyse waren iPTH und nox-PTH signifikant mit atherosklerotischen Ereignissen, Herzinsuffizienz und CKD-Progression assoziiert.

Nach Korrektur für eGFR und log Albuminurie war nox-PTH bereits nicht mehr signifikant prädiktiv, sowohl für atherosklerotische Ereignisse als auch für kardiale Dekompensation und CKD-Progression. Während die Adjustierung für eGFR und Albuminurie in ähnlicher Weise die prognostische Bedeutung von erhöhtem iPTH zur Vorhersage atherosklerotischer Ereignisse und CKD-Progression abschwächte, blieb iPTH ein unabhängiger Prädiktor für kardiale Dekompensation. Nach einer weiteren Korrektur für Alter, Geschlecht, Diabetes mellitus, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen, Plasmaphosphor und log-pro-BNP hatten Patienten mit iPTH-Spiegeln in der höchsten Tertile ein 3,2-fach erhöhtes Risiko für künftige kardiale Dekompensation.

In der univariaten Analyse zeigte sich FGF-23 als signifikanter Prädiktor für alle drei vordefinierten Endpunkte. Dies bestätigte sich ebenfalls für die multivariate Analyse in Bezug auf kardiale Dekompensation. Interessanterweise ging diese signifikante Assoziation von FGF-23 nach Korrektur für die eGFR und ln (logarithmiert) Albuminurie in der multivariaten Cox-Regressionsanalyse für atherosklerotische und renale Ereignisse verloren (Tabelle 8-9).

Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt kardiale Dekompensation

Tabelle 7: Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt kardiale Dekompensation.

Univariate Analyse					Model a			Model b			Model c		
Variable		HR	95%KI	p	HR	95%KI	p	HR	95%KI	p	HR	95%KI	p
iPTH	*2. Tertile	2,66	0,94-7,46	0,063	1,88	0,66-5,36	0,237	2,19	0,77-6,29	0,143	2,12	0,74-6,07	0,159
	*3. Tertile	6,86	2,66-17,7	<0,001	2,78	0,97-7,98	0,056	3,45	1,24-9,57	0,017	3,19	1,12-9,05	0,029
FGF-23	*2. Tertile	1,91	0,56-6,55	0,299	1,36	0,38-4,82	0,625	1,24	0,35-4,41	0,734	1,21	0,43-4,27	0,766
	*3. Tertile	10,44	3,72-29,3	<0,001	5,10	1,56-16,6	0,007	4,76	1,44-15,71	0,010	4,33	1,31-14,39	0,010
Calcitriol	*2. Tertile	0,84	0,52-1,35	0,482	1,05	0,65-1,70	0,853	1,30	0,80-2,12	0,286	1,46	0,88-2,41	0,140
	*3. Tertile	0,81	0,51-1,3	0,394	1,28	0,78-2,07	0,316	1,44	0,88-2,36	0,145	1,41	0,84-2,36	0,190
nox-PTH	*2. Tertile	1,17	0,66-2,09	0,588	0,89	0,49-1,61	0,708	0,95	0,52-1,71	0,861	7,43	0,39-1,39	0,354
	*3. Tertile	2,68	1,64-4,39	<0,001	1,45	0,83-2,52	0,182	1,52	0,89-2,61	0,125	1,04	0,53-2,51	0,906

HR: Hazard Ratio; 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; p: Signifikanzniveau.

* verglichen mit der 1. Tertile als Referenz.

Model a: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie

Model b: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen

Model c: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen, log iPTH, log FGF-23 und log Calcitriol, je nach untersuchtem Parameter

Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt atherosklerotische Ereignisse

Tabelle 8: Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt atherosklerotische Ereignisse.

Univariate Analyse					Model a			Model b			Model c		
Variable		HR	95% KI	p	HR	95%KI	p	HR	95%KI	p	HR	95%KI	p
iPTH	*2. Tertile	1,17	0,68-2,01	0,563	0,92	0,53-1,59	0,761	0,99	0,57-1,72	0,974	0,99	0,57-1,73	0,970
	*3. Tertile	2,27	1,39-3,69	<0,001	0,93	0,52-1,66	0,804	0,94	0,53-1,65	0,830	0,92	0,52-1,64	0,783
FGF-23	*2. Tertile	1,44	0,81-2,59	0,212	1,03	0,56-1,90	0,910	1,09	0,61-1,99	0,757	1,13	0,62-2,08	0,685
	*3. Tertile	3,22	1,94-5,36	<0,001	1,40	0,75-2,62	0,287	1,33	0,72-2,46	0,361	1,36	0,73-2,56	0,328
Calcitriol	*2. Tertile	0,68	0,43-1,08	0,107	0,84	0,53-1,34	0,480	0,94	0,58-1,51	0,801	0,94	0,58-1,53	0,821
	*3. Tertile	0,58	0,36-0,94	0,028	0,88	0,54-1,44	0,614	0,78	0,47-1,29	0,338	0,78	0,47-1,29	0,335
nox-PTH	*2. Tertile	1,38	0,79-2,40	0,255	1,04	0,59-1,84	0,887	1,05	0,59-1,85	0,870	1,09	0,59-2,03	0,773
	*3. Tertile	2,45	1,49-4,04	<0,001	1,26	0,72-2,21	0,411	1,22	0,71-2,14	0,471	1,39	0,68-2,84	0,364

HR: Hazard Ratio; 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; p: Signifikanzniveau.

* verglichen mit der 1. Tertile als Referenz.

Model a: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie

Model b: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen

Model c: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen, log iPTH, log FGF-23 und log Calcitriol, je nach untersuchtem Parameter

Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt renales Ereignis

Tabelle 9: Multivariate Cox-Regressionsanalyse Endpunkt renales Ereignis.

Univariate Analyse					Model a			Model b			Model c		
Variable		HR	95% KI	p	HR	95%KI	p	HR	95%KI	p	HR	95%KI	p
iPTH	*2. Tertile	1,44	0,58-3,59	0,426	1,06	0,42-2,66	0,897	0,96	0,37-2,47	0,941	1,00	0,39-2,54	0,994
	*3. Tertile	7,08	3,33-15,1	<0,001	1,22	0,52-2,87	0,646	1,04	0,43-2,49	0,930	1,14	0,47-2,79	0,772
FGF-23	*2. Tertile	6,13	1,77-21,2	0,004	2,45	0,67-8,90	0,171	2,48	0,68-9,05	0,169	2,13	0,57-7,93	0,257
	*3. Tertile	19,6	6,11-63,18	<0,001	3,08	0,85-11,12	0,084	3,36	0,93-12,13	0,064	2,35	0,57-9,65	0,236
Calcitriol	*2. Tertile	0,52	0,29-0,93	0,027	1,01	0,56-1,85	0,960	1,03	0,55-1,92	0,924	1,26	0,66-2,41	0,481
	*3. Tertile	0,37	0,19-0,71	0,003	0,96	0,49-1,86	0,914	1,04	0,53-2,05	0,893	1,14	0,57-2,28	0,698
nox-PTH	*2. Tertile	1,27	0,57-2,83	0,560	0,56	0,24-1,30	0,179	0,51	0,21-1,19	0,119	0,45	0,18-1,11	0,081
	*3. Tertile	3,73	1,91-7,30	<0,001	0,83	0,38-1,77	0,625	0,71	0,32-1,55	0,383	0,51	0,18-1,38	0,186

HR: Hazard Ratio; 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; p: Signifikanzniveau.

* verglichen mit der 1. Tertile als Referenz.

Model a: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie

Model b: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen

Model c: Adjustierung für eGFR und log Albuminurie, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht, prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen, log iPTH, log FGF-23 und log Calcitriol, je nach untersuchtem Parameter

4 Diskussion

In der vorliegenden Dissertationsarbeit wurden im Rahmen der prospektiven CARE FOR HOME-Studie 544 chronisch nierenkranke Patienten in den KDIGO-Stadien 2-4 untersucht, um die prädiktive Wertigkeit zentraler Biomarker der Calcium-Phosphat-Homöostase miteinander zu vergleichen. Von besonderem Interesse war der Vergleich der prädiktiven Wertigkeit bereits etablierter CKD-MBD-Parameter mit der von nox-PTH für zukünftige kardiovaskuläre und renale Ereignisse bei chronischer Nierenerkrankung.

Entsprechend liegt der Fokus dieser Arbeit auf der prognostischen Bedeutung von nox-PTH-Spiegeln. Experimentelle Arbeiten suggerieren, dass es sich bei nox-PTH um den biologisch aktiven Teil des Parathormons handelt. Deswegen wird postuliert, dass die Bestimmung von nox-PTH eine noch präzisere Aussage über den eigentlichen Hormonstatus des Patienten bietet. Die Ausprägung eines sekundären Hyperparathyreoidismus kann somit hypothetisch noch genauer widerspiegelt werden als mit herkömmlichen Parathormon-Messungen (30, 31, 33).

Die Idee der Nichtfunktionalität von oxidiertem PTH ergibt sich aus *in vivo*- und *in vitro*-Daten, die darauf hindeuten, dass nur nox-PTH in der Lage ist, PTH-Rezeptoren zu aktivieren und somit physiologische PTH-Wirkungen auszuführen (28, (31). Im Einklang besteht nur eine schwache Korrelation zwischen konventionellen PTH-Messungen und der Knochenhistomorphometrie, da diese auch oxidiertes PTH miterfassen, welches insbesondere bei CKD-Patienten in großen Mengen vorzuliegen scheint. Hier wird vermutet, dass ein Zusammenhang zwischen großen ox-PTH-Mengen und hohem oxidativen Stress bei CKD-Patienten besteht (30).

In Tierversuchen induzierte oxidiertes PTH keine physiologischen PTH-Effekte, wie zum Beispiel einen Anstieg des Serumcalciums, einen Abfall des Serumphosphats oder eine Stimulation der Calcitriol-Synthese (29). Die beeinträchtigte biologische Funktionalität von ox-PTH resultiert aus einer verminderten Wechselwirkung zwischen dem oxidierten Teil des Parathormons und den PTH-Rezeptoren. Dies geschieht aufgrund einer Veränderung der sekundären Proteinstruktur von PTH nach Oxidation von Methioninresten in Position 8 und 18 (29, 31, 33).

Darauf basierend wurde darüber diskutiert, eine vierte Generation des PTH-Assays zu entwickeln. Dieser Assay soll zwischen nox-PTH, der vermutlich biologisch aktiven Form, und ox-

PTH, vermeintlich biologisch inaktivem PTH, unterscheiden können und somit selektiv biologisch aktives PTH nachweisen (39).

Wie oben bereits erwähnt, gibt es aktuell vier verschiedene PTH-Assays unterschiedlicher Generationen. Das Assay der ersten Generation konnte noch nicht zwischen den PTH-Molekülen voller Länge und PTH Abbaufragmenten unterscheiden. Daraus resultierend kam es vermehrt zu falsch positiven Ergebnissen. Folglich kommt der Assay der ersten Generation in der klinischen Diagnostik heute nicht mehr zur Anwendung. Der Assay der zweiten Generation detektiert das intakte PTH-Molekül (iPTH). Da dieser Assay an Position 1-84 und 7-84 der Aminosäurekette bindet, kommt es unabhängig der Nierenfunktion des Patienten zu keinen falsch-positiven Messungen (40). Dieses Verfahren gilt derzeit als das gängigste in der klinischen Routine zur Bestimmung der Parathormon-Spiegel. Bei der dritten Generation des PTH-Assays handelt es sich um einen immunometrischen Assay, auch als „Whole-PTH-Assay“ bezeichnet, welches mit Hilfe eines Antikörpers das ganze Molekül detektiert. Dennoch zeigte sich keine relevante Besserung der Korrelation zwischen PTH-Werten, die mittels Drittgenerationsassays gemessen wurden, und den entsprechenden klinischen Korrelaten der CKD-MBD (30, 39).

In CARE FOR HOME konnten wir trotz der in experimentellen Studien beschriebenen Ergebnisse keine überlegene prädiktive Wertigkeit von nox-PTH in der Vorhersage renaler und kardiovaskulärer Ereignisse bei chronisch nierenkranken Patienten im Vergleich zu iPTH nachweisen (30, 31, 33). Nox-PTH war nach Korrektur für klassische renale und kardiovaskuläre Risikofaktoren (eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, Diabetes mellitus und prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen) sowie CKD-MBD-spezifische Parameter (Calcitriol und FGF-23) in der multivariaten Regressionsanalyse für die vordefinierten Endpunkte prognostisch nicht mehr signifikant. In der durchgeführten ROC-Analyse war nox-PTH, verglichen mit iPTH für die vordefinierten Endpunkte, prognostisch ebenfalls nicht überlegen.

Mit der hohen Anzahl der eingeschlossenen chronisch nierenkranken Patienten in unserer Studie werden zwar bisherige CKD Kohortenstudien (31, 33), welche nox-PTH als Biomarker untersuchten, in ihrer Probandenzahl übertroffen, jedoch könnte die Beschränkung auf Patienten in den CKD-Stadien 2-4 und die fehlende Rekrutierung nierengesunder Probanden als potenzielle Limitationen betrachtet werden. Man muss allerdings beachten, dass die Restriktion auf CKD-Patienten in den CKD-Stadien G 2-4 bewusst vorgenommen wurde, um für die prospektive Datenauswertung eine – hinsichtlich der Nierenfunktion – homogenere Patientenkohorte zu definieren.

Die Kohortenstudie von Tepel und Kollegen war vor CARE FOR HOME die einzige Studie mit prospektivem Design, welche die genauere Beziehung zwischen nox-PTH-Spiegeln und Mortalität bei CKD-Patienten untersuchte (33). In dieser Studie zeigten sich unter den 340 dialysepflichtigen Patienten in der höheren nox-PTH-Tertile ein besseres Überleben als bei Patienten in der niedrigen nox-PTH-Tertile. Allerdings galt dies lediglich für die Patienten mit iPTH-Spiegeln in der niedrigsten Tertile.

Diese inkonsistenten Post-hoc-Analysen und das Fehlen einer zweiten unabhängigen Kohortenstudie, die diese Ergebnisse von Tepel *et al.* bei dialysepflichtigen Patienten bestätigte, stellt die klinische Notwendigkeit von nox-PTH-Messungen in Frage. Darüber hinaus bleibt ungewiss, inwieweit Tepels Ergebnisse auf Nicht-Dialyse-CKD-Patienten übertragen werden können.

In CARE FOR HOME wurde nox-PTH nicht in dialysepflichtigen, sondern in chronisch nierenkranken Patienten in den CKD-Stadien 2-4 gemessen, da postuliert wird, dass dialysepflichtige Patienten besonders hohem oxidativem Stress ausgesetzt sind (59, 60). Da man vermutet, dass der oxidative Stress bei dialysepflichtigen Patienten deutlich höher ist als in frühen CKD-Stadien, gingen wir in unserer Studie von deutlich niedrigeren nox-PTH-Spiegeln als in der Studie von Tepel und Kollegen aus. Überraschenderweise sind die nox-PTH-Spiegel beider Studien sehr ähnlich (Tepel: IQR 2-14 ng/ml, CARE FOR Home: 7-13 ng/ml), was wiederum kontrovers erscheint, da die Hypothese, dass oxidativer Stress eine zentrale Auswirkung auf das Patientenüberleben hat, in CARE FOR HOME somit nicht bestätigt werden kann (33). Zudem wurde in CARE FOR HOME erstmalig die prognostische Bedeutung der nox-PTH Plasma-Spiegel für die Endpunkte kardiale Dekompensation, renale Ereignisse sowie atherosklerotische Ereignisse zusätzlich zur Gesamtmortalität untersucht.

Entgegen unserer Erwartung korrelierte nach Korrektur für die Störvariablen weder nox-PTH noch iPTH mit atherosklerotischen Ereignissen. Unsere Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen der "Cardiovascular Health Study" überein (61). In dieser Studie wurden 2312 Probanden aus der allgemeinen US-Population in höherem Alter und überwiegend ohne eingeschränkte Nierenfunktion untersucht. Während einer Nachbeobachtungszeit von 14 Jahren korrelierten erhöhte iPTH-Spiegel lediglich mit kardialer Dekompensation, nicht aber mit Tod kardiovaskulärer Genese oder Myokardinfarkten (61).

In CARE FOR HOME zeigte sich ebenfalls eine deutliche Assoziation erhöhter iPTH-Spiegel mit dem Endpunkt kardiale Dekompensation, die auch nach Korrektur für Nierenfunktion und andere potenzielle Störvariablen bestehen blieb. So zeigten Patienten in der höchsten iPTH-

Tertile ein mehr als dreifach erhöhtes Risiko, eine kardiale Dekompensation zu erleiden, verglichen mit Patienten in der ersten Tertile. Dieser deutliche Zusammenhang zeigte sich jedoch nicht zwischen iPTH und atherosklerotischen Ereignissen. Zugegebenermaßen berichteten andere Studien diesbezüglich diskrepante Ergebnisse (61), wobei einige – aber nicht alle Studien – eine signifikante Assoziation zwischen iPTH und zukünftigen atherosklerotischen Ereignissen beschreiben (62).

Eine potenzielle pathophysiologische Erklärung der beobachteten Korrelation zwischen iPTH und kardialer Dekompensation könnten direkte hypertrophische Effekte von iPTH auf die Kardiomyozyten über PTH-Rezeptoren darstellen, was zu einer myokardialen Hypertrophie führt. Diese Hypothese wird durch die Korrelation von PTH-Werten mit linksventrikulärer Hypertrophie in epidemiologischen wie auch experimentellen Studien bestärkt (63). Ebenfalls zu bemerken ist, dass der Blutdruck nach einer Parathyreoidektomie sinkt, was wiederum ein Indiz dafür ist, dass erhöhte iPTH-Spiegel mit dem Auftreten einer arteriellen Hypertonie assoziiert sind (64-66). Im Einklang mit den Erkenntnissen aus der CARE FOR HOME-Studie demonstrierten andere Studien ebenfalls eine Assoziation zwischen erhöhten iPTH-Spiegeln und Mortalität bei CKD-Patienten (67, 68). Eine Post-Hoc-Analyse der EVOLVE-Studie beschrieb ebenfalls eine verringerte Mortalität bei dialysepflichtigen Patienten unter Behandlung mit Cinacalcet verglichen zu der Placebo-Gruppe (69).

Schlussfolgernd kann man demnach sagen, dass iPTH als guter prognostischer Biomarker für sowohl renale als auch kardiovaskuläre Ereignisse bei nicht-dialysepflichtigen CKD-Patienten gilt.

In dieser Dissertation wurde die prädiktive Wertigkeit etablierter CKD-MBD-Parameter mit der prädiktiven Wertigkeit von nox-PTH verglichen.

Unter anderem wurde FGF-23 in seiner Funktion als zentraler Regulator im Calcium-Phosphat-Haushalt als prognostischer Biomarker untersucht.

FGF-23 zeigte die höchste prädiktive Wertigkeit in Bezug auf den Endpunkt kardiale Dekompensation und renale Ereignisse. In der Vorhersage atherosklerotischer Ereignisse wies FGF-23 eine ähnliche diagnostische Genauigkeit wie iPTH und nox-PTH auf. In CARE FOR HOME blieb FGF-23 nach der vollständigen Anpassung für die Nierenfunktion, das Alter, das Geschlecht, die Komorbiditäten und andere CKD-MBD Parameter ein starker Prädiktor des Endpunktes kardiale Dekompensation. Eine mögliche pathophysiologische Ursache für den beschriebenen statistischen Zusammenhang zwischen FGF-23 und Herzinsuffizienz konnte in

einer tierexperimentellen Studie gezeigt werden: Faul *et al.* konnten im Jahr 2011 erstmals im Mausmodell Klotho-unabhängige kardiovaskuläre Effekte von FGF-23 nachweisen (70). So induzierte FGF-23 sowohl in Zellkulturen als auch in vivo über eine Aktivierung des PLC γ -Signalweges eine Hypertrophie von Kardiomyozyten. Durch das Hemmen von FGF-23 in einem Mausmodell konnte umgekehrt das Auftreten einer Myokardhypertrophie in der chronischen Nierenerkrankung verhindert werden. Da eine Myokardhypertrophie langfristig zur chronischen Myokardinsuffizienz führt, ermöglichen diese experimentellen Daten von Faul *et al.* das Verständnis von epidemiologischen Untersuchungen, die in Querschnittsanalysen eine Assoziation zwischen erhöhtem FGF-23 und eingeschränkter LV Funktion beschreiben, sowie die Resultate prospektiver Studien, die FGF-23 als Prädiktor für das Auftreten eines Herzversagens identifizierten (71-74).

Calcitriol erwies sich in unserer Studie als schlechtester prädiktiver Biomarker für die Prädiktion der vordefinierten klinischen Endpunkte.

Diese Erkenntnis steht im Gegensatz zur Kohortenstudie von Ravani *et al.*, in welcher 25-OH Vitamin D₃ als prognostischer Biomarker untersucht wurde. In dieser Studie konnten erniedrigte 25-OH-Vitamin D-Spiegel eine signifikante prädiktive Wertigkeit für sowohl Krankheitsprogression als auch Mortalität bei CKD-Patienten im Stadium 2-5 darstellen (18). Dieses Ergebnis konnte in unserer CARE FOR HOME-Studie mit Calcitriol als Prädiktor leider nicht bestätigt werden.

Ähnliche Assoziationen zwischen erniedrigten 25-OH-Vitamin D₃-Spiegeln sowie Calcitriol-Spiegeln und erhöhter Mortalität bei 825 bereits dialysepflichtigen Patienten konnte in der Kohortenstudie von Wolf *et al.* beobachtet werden (19). Zu beachten ist allerdings, dass Calcitriol eine höhere Affinität zu Vitamin D-Rezeptoren aufweist als 25-OH-Vit D₃, woraufhin wir diese beiden Biomarker nicht gleichsetzen sollten (19). Zu einem ähnlichen Ergebnis kam die retrospektive, nicht-randomisierte Studie von Shoben *et al.*, welche eine Minderung der Mortalität bei nicht-dialysepflichtigen CKD-Patienten unter Calcitriol-Substitution beschrieb (75).

Experimentelle Studien postulieren, dass ein Mangel an Vitamin D mit der linksventrikulären Funktion in Form einer linksventrikulären Hypertrophie und reduzierter Ejektionsfraktion korreliert (61, 76). Demnach wird ein positiver, modifizierender Effekt von Vitamin D an der kardialen Struktur und Funktion vermutet. Die PRIMO-Studie untersuchte daher, ob sich eine linksventrikuläre Hypertrophie durch die Substitution von Vitamin D, in diesem Fall Paricalcitol, verhindern ließe (77).

Hier wurden insgesamt 227 chronisch nierenkranke Patienten (GFR von 15-60 mL/min/1.75 m²) mit leichter bis mittelschwerer linksventrikuläre Hypertrophie und konservierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion untersucht. Leider konnte kein positiver Effekt auf die linksventrikuläre Hypertrophie beobachtet werden. Allerdings war in dieser Studie der Beobachtungszeitraum von 2 Jahren wahrscheinlich zu kurz und die verabreichte Dosis (2 µg/d) zu hoch. Es war jedoch zu beobachten, dass die iPTH Werte in den Paricalcitol-behandelten Patienten stark gefallen waren. Nach insgesamt 48 Wochen kam die Primo-Studie schließlich zu dem Ergebnis, dass die Substitution von Paricalcitol in CKD-Patienten mit Vitamin D-Mangel keinen Einfluss auf kardiovaskuläre Mortalität bei CKD-Patienten hat (77).

Eine weitere Studie, die sich mit dem Thema befasste, ist die OPERA Studie. Hier handelt es sich um eine prospektive, doppelblinde randomisierte Placebo-kontrollierte Studie, welche versuchte festzustellen, ob die Substitution von oral gegebenem Calcitriol die linksventrikuläre (LV) Masse bei Patienten in den CKD-Stadien 3-5 reduziert. In dieser Studie waren insgesamt 60 Patienten eingebunden und wurden über einen Zeitraum von 52 Wochen beobachtet (76).

Wie schon in der PRIMO-Studie wurde auch bei Opera ein signifikanter Abfall von iPTH und der alkalischen Phosphatase unter Behandlung mit Paricalcitol beobachtet. Abschließend konnte man nach einer 52-wöchigen Therapie mit Paricalcitol p.o. eine signifikante Verbesserung des sekundären Hyperparathyreoidismus feststellen. Ein positiver Effekt auf die linksventrikuläre Hypertrophie konnte jedoch auch in OPERA nicht beobachtet werden (76).

Die oben genannten PRIMO-Studien, welche über Vitamin D-Substitution in CKD-Patienten mit kardiovaskulären Begleiterkrankungen berichten, sind durch ihre relativ kleinen Kohorten von 60 und 227 Probanden in ihrer statistischen Aussagekraft eingeschränkt (76, 77). Es werden demnach weitere prospektive, randomisierte Studien mit größeren Kohorten und längeren Beobachtungszeit als in der PRIMO- und OPERA-Studie benötigt, welche eindeutig belegen können, ob die Substitution von nativem Vitamin D sowie auch Calcitriol die kardiovaskuläre Mortalität in CKD-Patienten reduzieren könnte. Die Ergebnisse der CARE FOR HOME-Studie sprechen gegen einen kardiovaskulär prognostischen Nutzen einer Vitamin D-Substitution bei chronischer Nierenerkrankung.

5 Schlussfolgerung

Entgegen der Annahme einer besseren Reflektion der biologischen Parathormonaktivität durch nox-PTH im Vergleich zu iPTH zeigte sich nox-PTH in keiner der durchgeführten prospektiven Analysen in der CARE FOR HOME-Studie gegenüber iPTH statistisch überlegen. Es erwies sich sogar, dass nox-PTH eine noch geringere diagnostische Genauigkeit in der Prädiktion renaler und kardiovaskulärer Endpunkte bei CKD-Patienten besitzt.

So ist aus den Ergebnissen dieser CARE FOR HOME-Kohortenstudie nox-PTH als prädiktiver CKD-BMD-Biomarker in der klinischen Routine zu diesem Zeitpunkt von fragwürdigem Nutzen. Demnach erscheint es empfehlenswert, die gewohnten etablierten iPTH-Bestimmungen mit dem ECLIA der zweiten und dritten Generation zur Ermittlung des PTH-Spiegels bei chronisch nierenkranken Patienten als Methoden der ersten Wahl weiterhin im klinischen Alltag zu nutzen.

Interessanterweise zeigte sich Calcitriol als schwächster Prädiktor der untersuchten CKD-MBD-Parameter für die vordefinierten kardiovaskulären und renalen Studienendpunkte. Dies steht im Gegensatz zu den postulierten kardiovaskulär protektiven Eigenschaften von Calcitriol. Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen von weiteren prospektiven Studien, welche keinen kardiovaskulär prognostischen Nutzen von einer Substitution mit Calcitriol aufzeigen konnten.

Von allen untersuchten CKD-MBD-Parametern dieser Arbeit zeigten sich erhöhte FGF-23-Werte als stärkster Prädiktor der vordefinierten Endpunkte. Überdies zeigte sich FGF-23 prädiktiv und unabhängig als prognostischer Biomarker insbesondere für kardiale Dekompensationen, weniger für atherosklerotische Ereignisse. Dieser besonders deutliche Zusammenhang zwischen FGF-23 und kardialen Dekompensationen lässt eine Kausalität zwischen erhöhten FGF-23-Spiegeln und der Entstehung einer kardialen Dekompensation vermuten. Unter Berücksichtigung dieser Fakten sollten sich zukünftige Studien auf die weitere Klärung des pathophysiologischen Zusammenhanges zwischen FGF-23 und Herzinsuffizienz fokussieren, da FGF-23 ein wertvolles Therapieziel zur Besserung der kardiovaskulären Prognose von CKD-Patienten darstellen könnte.

6 Literaturverzeichnis

1. J. Munoz Mendoza *et al.*, Inflammation and elevated levels of fibroblast growth factor 23 are independent risk factors for death in chronic kidney disease. *Kidney Int* **91**, 711-719 (2017).
2. A. S. Levey *et al.*, A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* **150**, 604-612 (2009).
3. M. R. Rubin, J. P. Bilezikian, Hypoparathyroidism: clinical features, skeletal microstructure and parathyroid hormone replacement. *Arq Bras Endocrinol Metabol* **54**, 220-226 (2010).
4. N. Mitsides, D. F. Keane, E. Lindley, S. Mitra, Technology innovation for patients with kidney disease. *J Med Eng Technol* **39**, 424-433 (2014).
5. P. E. Stevens, A. Levin, K. D. I. G. O. C. K. D. G. D. W. G. Members, Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med* **158**, 825-830 (2013).
6. M. Girndt, P. Trocchi, C. Scheidt-Nave, S. Markau, A. Stang, The Prevalence of Renal Failure. Results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults, 2008-2011 (DEGS1). *Dtsch Arztebl Int* **113**, 85-91 (2016).
7. V. Jha *et al.*, Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* **382**, 260-272 (2013).
8. P. R. Gajjala, D. Fliser, T. Speer, V. Jankowski, J. Jankowski, Emerging role of post-translational modifications in chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* **30**, 1814-1824 (2015).
9. R. G. Fassett *et al.*, Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney Int* **80**, 806-821 (2011).
10. T. Isakova *et al.*, Daily variability in mineral metabolites in CKD and effects of dietary calcium and calcitriol. *Clin J Am Soc Nephrol* **7**, 820-828 (2012).
11. J. T. Potts, H. M. Kronenberg, M. Rosenblatt, Parathyroid hormone: chemistry, biosynthesis, and mode of action. *Adv Protein Chem* **35**, 323-396 (1982).
12. J. F. Habener, M. Rosenblatt, J. T. Potts, Parathyroid hormone: biochemical aspects of biosynthesis, secretion, action, and metabolism. *Physiol Rev* **64**, 985-1053 (1984).
13. A. S. Dusso, A. J. Brown, E. Slatopolsky, Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* **289**, F8-28 (2005).
14. J. B. Cheng, D. L. Motola, D. J. Mangelsdorf, D. W. Russell, De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *J Biol Chem* **278**, 38084-38093 (2003).
15. H. F. DeLuca, Role of kidney tissue in metabolism of vitamin D. *N Engl J Med* **284**, 554-555 (1971).

16. H. F. DeLuca, Current concepts. Vitamin D. *N Engl J Med* **281**, 1103-1104 (1969).
17. R. Mehrotra *et al.*, Hypovitaminosis D in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* **3**, 1144-1151 (2008).
18. P. Ravani *et al.*, Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* **75**, 88-95 (2009).
19. M. Wolf *et al.*, Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* **72**, 1004-1013 (2007).
20. H. T. Keutmann, M. M. Sauer, G. N. Hendy, L. H. O'Riordan, J. T. Potts, Complete amino acid sequence of human parathyroid hormone. *Biochemistry* **17**, 5723-5729 (1978).
21. K. D. I. G. O. K. C.-M. W. Group, KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*, S1-130 (2009).
22. W. D. Fraser, Hyperparathyroidism. *Lancet* **374**, 145-158 (2009).
23. C. Kumata *et al.*, Involvement of alpha-klotho and fibroblast growth factor receptor in the development of secondary hyperparathyroidism. *Am J Nephrol* **31**, 230-238 (2010).
24. J. Floege *et al.*, Serum iPTH, calcium and phosphate, and the risk of mortality in a European haemodialysis population. *Nephrol Dial Transplant* **26**, 1948-1955 (2011).
25. P. A. Torres, M. De Broe, Calcium-sensing receptor, calcimimetics, and cardiovascular calcifications in chronic kidney disease. *Kidney Int* **82**, 19-25 (2012).
26. J. C. Souberbielle, H. Roth, D. P. Fouque, Parathyroid hormone measurement in CKD. *Kidney Int* **77**, 93-100 (2010).
27. L. Chaykovska, O. Tsuprykov, B. Hoher, Biomarkers for the prediction of mortality and morbidity in patients with renal replacement therapy. *Clin Lab* **57**, 455-467 (2011).
28. T. Galceran, J. Lewis-Finch, K. J. Martin, E. Slatopolsky, Absence of biological effects of oxidized parathyroid hormone-(1-34) in dogs and rats. *Endocrinology* **115**, 2375-2378 (1984).
29. J. E. Zull, S. K. Smith, R. Wiltshire, Effect of methionine oxidation and deletion of amino-terminal residues on the conformation of parathyroid hormone. Circular dichroism studies. *J Biol Chem* **265**, 5671-5676 (1990).
30. B. Hoher *et al.*, Measuring parathyroid hormone (PTH) in patients with oxidative stress--do we need a fourth generation parathyroid hormone assay? *PLoS One* **7**, e40242 (2012).
31. B. Hoher *et al.*, Modeling of oxidized PTH (oxPTH) and non-oxidized PTH (n-oxPTH) receptor binding and relationship of oxidized to non-oxidized PTH in children with chronic renal failure, adult patients on hemodialysis and kidney transplant recipients. *Kidney Blood Press Res* **37**, 240-251 (2013).

32. R. HJ, Nicht-oxidiertes Parathormon (n-ox PTH). 2014
33. M. Tepel *et al.*, Nonoxidized, biologically active parathyroid hormone determines mortality in hemodialysis patients. *J Clin Endocrinol Metab* **98**, 4744-4751 (2013).
34. E. Reiss, Measurement of parathyroid hormone. *Ann Intern Med* **69**, 1325-1326 (1968).
35. C. D. Arnaud, H. S. Tsao, T. Littledike, Radioimmunoassay of human parathyroid hormone in serum. *J Clin Invest* **50**, 21-34 (1971).
36. E. Blind, Twenty years of progress with parathyroid hormone (PTH): from specialized and "difficult" measurement to common laboratory parameter and treatment option in osteoporosis. *Clin Lab* **54**, 439-449 (2008).
37. E. Blind, H. Schmidt-Gayk, F. P. Armbruster, A. Stadler, Measurement of intact human parathyrin by an extracting two-site immunoradiometric assay. *Clin Chem* **33**, 1376-1381 (1987).
38. B. Pecovnik Balon, L. Puklavec, R. Hojs, [Comparison of the intact PTH test with the total PTH test in hemodialyzed patients]. *Acta Med Croatica* **57**, 69-70 (2003).
39. M. Skugor, S. D. N. Manjula Gupta, Ed. (Endocrine and Metabolic Institute and Department of Nephrology and Hypertension, Glickman Urological and Kidney Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, Ohio, USA, 2010).
40. F. R. Bringhurst, Circulating forms of parathyroid hormone: peeling back the onion. *Clin Chem* **49**, 1973-1975 (2003).
41. C. M. Sturgeon, S. M. Sprague, W. Metcalfe, Variation in parathyroid hormone immunoassay results--a critical governance issue in the management of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* **26**, 3440-3445 (2011).
42. S. Seiler *et al.*, FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* **25**, 3983-3989 (2010).
43. M. Kuro-o, Overview of the FGF23-Klotho axis. *Pediatr Nephrol* **25**, 583-590 (2010).
44. J. R. Stubbs *et al.*, Role of hyperphosphatemia and 1,25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in fibroblastic growth factor 23 null mice. *J Am Soc Nephrol* **18**, 2116-2124 (2007).
45. A. Consortium, Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet* **26**, 345-348 (2000).
46. T. Larsson, U. Nisbeth, O. Ljunggren, H. Jüppner, K. B. Jonsson, Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int* **64**, 2272-2279 (2003).
47. T. Isakova, M. S. Wolf, FGF23 or PTH: which comes first in CKD ? *Kidney Int* **78**, 947-949 (2010).

48. T. Isakova *et al.*, Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* **79**, 1370-1378 (2011).
49. O. M. Gutiérrez *et al.*, Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* **359**, 584-592 (2008).
50. T. Isakova *et al.*, Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA* **305**, 2432-2439 (2011).
51. S. M. Burnett *et al.*, Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. *J Bone Miner Res* **21**, 1187-1196 (2006).
52. Y. Yamazaki *et al.*, Increased circulatory level of biologically active full-length FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J Clin Endocrinol Metab* **87**, 4957-4960 (2002).
53. K. B. Jonsson *et al.*, Fibroblast growth factor 23 in oncogenic osteomalacia and X-linked hypophosphatemia. *N Engl J Med* **348**, 1656-1663 (2003).
54. C. A. Wagner, J. Biber, H. Murer, Of men and mice: who is in control of renal phosphate reabsorption? *J Am Soc Nephrol* **19**, 1625-1626 (2008).
55. T. Berndt *et al.*, Evidence for a signaling axis by which intestinal phosphate rapidly modulates renal phosphate reabsorption. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 11085-11090 (2007).
56. A. S. Levey *et al.*, Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem* **53**, 766-772 (2007).
57. A. A. Portale *et al.*, Disordered FGF23 and mineral metabolism in children with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* **9**, 344-353 (2014).
58. Y. T. Lee *et al.*, Association of bone-derived biomarkers with vascular calcification in chronic hemodialysis patients. *Clin Chim Acta* **452**, 38-43 (2016).
59. F. Locatelli *et al.*, Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* **18**, 1272-1280 (2003).
60. J. Himmelfarb, P. Stenvinkel, T. A. Ikizler, R. M. Hakim, The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* **62**, 1524-1538 (2002).
61. B. Kestenbaum *et al.*, Vitamin D, parathyroid hormone, and cardiovascular events among older adults. *J Am Coll Cardiol* **58**, 1433-1441 (2011).
62. A. J. van Ballegooijen, I. Reinders, M. Visser, I. A. Brouwer, Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Heart J* **165**, 655-664, 664.e651-655 (2013).
63. F. N. Saleh, H. Schirmer, J. Sundsfjord, R. Jorde, Parathyroid hormone and left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* **24**, 2054-2060 (2003).

64. A. K. Chan, Q. Y. Duh, M. H. Katz, A. E. Siperstein, O. H. Clark, Clinical manifestations of primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy. A case-control study. *Ann Surg* **222**, 402-412; discussion 412-404 (1995).
65. A. Piovesan *et al.*, Left ventricular hypertrophy in primary hyperparathyroidism. Effects of successful parathyroidectomy. *Clin Endocrinol (Oxf)* **50**, 321-328 (1999).
66. R. Jorde, J. Sundsfjord, E. Haug, K. H. Bonaa, Relation between low calcium intake, parathyroid hormone, and blood pressure. *Hypertension* **35**, 1154-1159 (2000).
67. F. Tentori *et al.*, Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* **52**, 519-530 (2008).
68. R. Wald *et al.*, Disordered mineral metabolism in hemodialysis patients: an analysis of cumulative effects in the Hemodialysis (HEMO) Study. *Am J Kidney Dis* **52**, 531-540 (2008).
69. G. M. Chertow *et al.*, Effect of cinacalcet on cardiovascular disease in patients undergoing dialysis. *N Engl J Med* **367**, 2482-2494 (2012).
70. C. Faul *et al.*, FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* **121**, 4393-4408 (2011).
71. J. H. Ix *et al.*, Fibroblast growth factor-23 and death, heart failure, and cardiovascular events in community-living individuals: CHS (Cardiovascular Health Study). *J Am Coll Cardiol* **60**, 200-207 (2012).
72. B. D. Parker *et al.*, The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. *Ann Intern Med* **152**, 640-648 (2010).
73. S. Seiler *et al.*, Associations of FGF-23 and sKlotho with cardiovascular outcomes among patients with CKD stages 2-4. *Clin J Am Soc Nephrol* **9**, 1049-1058 (2014).
74. J. J. Scialla *et al.*, Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular events in CKD. *J Am Soc Nephrol* **25**, 349-360 (2014).
75. A. B. Shoben, K. D. Rudser, I. H. de Boer, B. Young, B. Kestenbaum, Association of oral calcitriol with improved survival in nondialyzed CKD. *J Am Soc Nephrol* **19**, 1613-1619 (2008).
76. A. Y. Wang *et al.*, Effect of paricalcitol on left ventricular mass and function in CKD-the OPERA trial. *J Am Soc Nephrol* **25**, 175-186 (2014).
77. R. Thadhani *et al.*, Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA* **307**, 674-684 (2012).

7 Publikation/Dank

Die vorliegende Dissertation wurde vom Journal of the American Society of Nephrology zur Publikation angenommen.

Besonderer Dank gilt meiner Doktormutter und Betreuerin Frau PD Dr. Sarah Seiler-Mußler sowie Herrn Heinz-Jürgen Roth und Herrn Prof. Dr. med. Gunnar Heine für die außerordentlich gute Betreuung während der Entstehung meiner Dissertation. Frau PD Dr. Sarah Seiler-Mußler hat mich mit ihrem unerschöpflichen Fundus an thematischen und wissenschaftlichen Hinweisen stets navigieren können und stand mir jederzeit für konstruktive Gespräche zur Verfügung.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Danilo Fliser für die Möglichkeit der Promotion in der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten des Universitätsklinikums des Saarlandes.

Mein herzlicher Dank gilt ebenfalls Martina Wagner, Marie Blinn, Insa Emrich, John W. Pickering und dem gesamten Team der Nephrologie für die gute Zusammenarbeit sowie allen teilnehmenden Patienten der CARE FOR HOME-Studie für ihre investierte Zeit und Geduld.

Bei meinen Eltern, Geschwistern und Caroline Goos möchte ich mich ganz besonders herzlich bedanken für die uneingeschränkte und vielseitige Unterstützung während meines Studiums, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.